



TITLE:

富栄養化の指標としての生物培養
試験法に関する基礎的研究(
Dissertation_全文)

AUTHOR(S):

竺, 文彦

CITATION:

竺, 文彦. 富栄養化の指標としての生物培養試験法に関する基礎的研究.
京都大学, 1979, 工学博士

ISSUE DATE:

1979-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k2198>

RIGHT:

富栄養化の指標としての生物培養試験法に
関する基礎的研究

1979年1月

竺 文 彦

富栄養化の指標としての生物培養試験法に
関する基礎的研究

1979年 1月

竺 文彦

目 次

まえがき

第1章 結論	1
第1節 概説	1
第2節 富栄養化現象	1
(1) 富栄養化	1
(2) 富栄養化の指標	2
(3) 湖沼の窒素とリン	4
(4) 富栄養化の影響	6
(5) 窒素, リンの負荷および富栄養化モデル	6
(6) 赤潮	7
第3節 富栄養化の生物指標	8
(1) 野外調査	8
(2) 水質試験	10
(3) 生物培養試験法	11
第2章 藻類増殖試験法に関する基礎的研究	15
第1節 概説	15
第2節 AGPに関する文献的考察	15
2-1 試験方法	16
(1) 藻類	16
(2) 培地	17
(3) 培養容器	17
(4) 試水の前処理	18
(5) 培養方法	19

(6)	培養条件	19
(7)	藻類量の測定	20
2-2	AGPの応用	20
(1)	自然水の評価	21
(2)	富栄養化の制限因子の推定	21
(3)	下水処理水の評価	23
(4)	栄養負荷因子, 増殖阻害物質などの評価	24
(5)	その他の培養法	25
2-3	連続培養	26
(1)	ケモスタット装置	27
(2)	理論	27
第3節	研究目的	32
第4節	藻類増殖試験法に関する研究	34
4-1	バッチ培養法	34
4-1-1	全般的な実験方法	34
(1)	藻類	34
(2)	培地	36
(3)	試水の前処理	36
(4)	接種	36
(5)	培養方法	37
(6)	培養条件	37
(7)	藻類量の測定	37
4-1-2	各研究項目における実験方法	39
[1]	キャップの気密性	39
[2]	低栄養塩レベルの試水	40
[3]	リン酸を添加した試水	41
(1)	<i>Anabaena</i> によるリン酸および2種の光剤の 添加実験	42

(2)	<i>Selenastrum</i> によるリン酸および2種の薬剤の 添加実験	42
[4]	高栄養塩レベルの試水	42
(1)	<i>Anabaena</i> による下水処理水添加実験	43
(2)	<i>Closterium</i> による下水処理水添加実験	43
(3)	<i>Selenastrum</i> による下水処理水添加実験	44
4-1-3	実験結果および考察	45
[1]	キャップの気密性	45
[2]	低栄養塩レベルの試水	45
[3]	リン酸を添加した試水	46
(1)	<i>Anabaena</i> によるリン酸および2種の薬剤の 添加実験	46
(2)	<i>Selenastrum</i> によるリン酸および2種の薬剤の 添加実験	46
[4]	高栄養塩レベルの試水	47
(1)	<i>Anabaena</i> による下水処理水添加実験	47
(2)	<i>Closterium</i> による下水処理水添加実験	48
(3)	<i>Selenastrum</i> による下水処理水添加実験	48
4-2	連続培養法	51
4-2-1	実験方法	51
4-2-2	実験結果および考察	51
4-3	藻類増殖モデル	53
(1)	藻類増殖理論	53
(2)	比増殖速度	54
(3)	バッチ系における増殖理論	56
(4)	ロジスティック曲線	58
第5節	要約	61

第3章	藻類増殖試験法による下水3次処理の評価に関する研究	71
第1節	概説	71
第2節	3次処理および3次処理のAGPによる評価に関する 文獻的考察	71
2-1	富栄養化防止のための3次処理	72
[1]	生物学的硝化, 脱窒による窒素除去	72
(1)	硝化	72
(2)	脱窒	73
[2]	リン除去	76
(1)	石灰沈降	76
(2)	金属塩沈降	77
2-2	3次処理水のAGPによる評価	77
第3節	藻類増殖試験法による下水3次処理の評価に関する研究	79
3-1	実験方法	79
3-1-1	3次処理パイロットプラント	79
3-1-2	藻類増殖試験	80
[1]	生物学的処理水, 物理化学的処理水による 藻類増殖試験	80
[2]	物理化学的処理水による藻類増殖試験	80
3-2	実験結果および考察	81
3-2-1	3次処理パイロットプラント	81
3-2-2	藻類増殖試験	83
[1]	生物学的処理水, 物理化学的処理水による 藻類増殖試験	83
(1)	2次処理水	83
(2)	硝化処理水, 脱窒処理水	83
(3)	凝集沈降処理水	83
(4)	凝集沈降処理水へのリン再添加	84

〔2〕	物理化学的処理水による藻類増殖試験	84
第4節	要約	86
第4章	ウキウサを用いた富栄養化試験に関する基礎的研究	94
第1節	概説	94
第2節	ウキウサおよびウキウサ培養試験に関する文献的考察	95
2-1	水生植物	95
2-2	ウキウサの分類等	96
2-3	ウキウサ培養実験	97
(1)	培地	98
(2)	照度	98
(3)	温度	98
(4)	栄養塩	98
第3節	研究目的	100
第4節	ウキウサの培養試験に関する基礎的研究	102
4-1	実験方法	103
4-1-1	一般的な実験方法	103
(1)	ウキウサ	103
(2)	培地	103
(3)	培養方法	104
(4)	培養条件	104
(5)	増殖量の測定	104
4-1-2	各研究項目の実験方法	105
〔1〕	培地に関する実験	105
(1)	No.1 基本培地に関する実験	105
(2)	No.2 pHに関する実験	105
〔2〕	植え付けに関する実験	105
(1)	No.3 前培養期間に関する実験	105

(2)	No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験	106
[3]	栄養塩濃度に関する実験	106
(1)	No.5 リンの濃度に関する実験	106
(2)	No.6 窒素の濃度に関する実験	106
[4]	培養条件に関する実験	107
(1)	No.7 温度に関する実験	107
(2)	No.8 照度に関する実験	107
(3)	No.9 培地容量に関する実験	107
[5]	重金属の影響に関する実験	107
(1)	No.10 カドミウムの濃度に関する実験	107
(2)	No.11 鉛の濃度に関する実験	108
(3)	No.12 銅の濃度に関する実験	108
(4)	No.13 鉄の濃度に関する実験	108
4-2	実験結果および考察	108
4-2-1	各実験結果および考察	108
[1]	培地に関する実験	108
(1)	No.1 基本培地に関する実験	108
(2)	No.2 pHに関する実験	109
[2]	植え付けに関する実験	109
(1)	No.3 前培養に関する実験	109
(2)	No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験	109
a)	葉状体増殖数の分布に関する実験	110
b)	標本数に関する統計的考察	111
[3]	栄養塩濃度に関する実験	113
(1)	No.5 リンの濃度に関する実験	113
(2)	No.6 窒素の濃度に関する実験	113
[4]	培養条件に関する実験	113
(1)	No.7 温度に関する実験	114

(2)	No. 8 照度に関する実験	114
(3)	No. 9 培地容量に関する実験	115
〔5〕	重金属の影響に関する実験	115
(1)	No. 10 カドミウムの濃度に関する実験	115
(2)	No. 11 銅の濃度に関する実験	115
(3)	No. 12 鉛の濃度に関する実験	116
(4)	No. 13 鉄の濃度に関する実験	116
4-2-2	ウキクサの現存量の測定法に関する考察	116
(1)	葉状体数と根重量	116
(2)	葉状体数と葉状体表面積	117
1)	葉状体長径の測定による方法	117
2)	面積計による方法	117
4-2-3	ロジスティック曲線による評価	118
第5節	要約	119

第5章	ウキクサを用いた富栄養化試験の応用に関する研究	127
第1節	概説	127
第2節	レムナテストや自然水などに関する文献的考察	127
(1)	レムナテスト	127
(2)	浮葉水生植物の利用	128
(3)	鴨川水系	128
(4)	琵琶湖	129
(5)	底泥	130
第3節	ウキクサを用いた富栄養化試験の応用に関する研究	130
3-1	実験方法	130
〔1〕	鴨川水系刃川水	131
(1)	鴨川水系刃川水によるウキクサ培養試験Ⅰ	131
(2)	鴨川水系刃川水によるウキクサ培養試験Ⅱ	131

(3)	鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅲ	131
[2]	琵琶湖湖水	131
(1)	琵琶湖湖水によるウキワサ培養試験Ⅰ	131
(2)	琵琶湖湖水によるウキワサ培養試験Ⅱ	132
[3]	底泥流出水によるウキワサ培養試験	132
3-2	実験結果および考察	133
3-2-1	各実験項目の実験結果および考察	133
[1]	鴨川水系河川水	133
(1)	鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅰ	133
(2)	鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅱ	133
(3)	鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅲ	134
[2]	琵琶湖湖水	134
(1)	琵琶湖湖水によるウキワサ培養試験Ⅰ	134
(2)	琵琶湖湖水によるウキワサ培養試験Ⅱ	134
[3]	底泥流出水によるウキワサ培養試験	135
3-2-2	ウキワサ現存量の測定法に関する考察	135
3-2-3	水質と生物指標および生物指標間の相関に関する考察	136
(1)	自然水の水質と生物指標との相関に関する考察	136
(2)	ウキワサ培養試験結果と藻類培養試験結果との 相関に関する考察	137
3-2-4	統計的検定に関する考察	137
(1)	鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅱに関する 統計学的検定	139
(2)	琵琶湖湖水によるウキワサ培養試験Ⅱに関する 統計学的検定	139

第6章	結論	145
第1節	本研究の總括および主要な成果	145
第2節	今後に残された課題	147
	結語	148

ま え が き

毎年、瀬戸内海では赤潮が発生し内海における漁業に大きな被害を与えている。1977年、1978年 5、6月には琵琶湖において淡水赤潮が西岸水域を中心に発生し、長く貧栄養状態を保ってきた琵琶湖の富栄養化への徴候として憂慮されている。これらの赤潮の発生機構には赤潮プランクトンと呼ばれる微生物特有の性質が深く関与しているわけであるが、水域への栄養塩の流入による富栄養化が最も根本的な問題点であると考えられる。

富栄養化の測定、評価には理化学的な手法が多く用いられてきたが、生物の1次生産に密接な関係のある富栄養化現象の把握には生物学的な手法による調査、測定が不可欠である。しかし野外における生物調査などは生物学上の専門的な知識を必要とし、衛生工学をはじめとする工学的な分野の技術者、研究者には適していない。また定量的な評価という点においても問題点が多い。

実験室内において藻類を接種し、試水の富栄養化の潜在力（AGP: Algal Growth Potential）を測定する藻類増殖試験は、次のような点で非常にすぐれた富栄養化の指標と考えられる。

- 1) 専門的な生物同定の知識を必要としない。
- 2) 顕在化していない富栄養化をも把握できる。
- 3) 定量的な結果が得られ、生物の野外調査などより精度や再現性が高い。
- 4) 単独の栄養塩のみの影響だけでなく生物増殖を刺激するさまざまな因子を総合的に評価できる。

現在、富栄養化の防止のための水処理などが現実の問題として検討あるいは実施されているが、何を、どの程度まで処理すればよいかについてはいまだ明らかではない。藻類増殖試験によるAGPを富栄養化の指標とし、また水処理などの効果の指標とすることは今後の富栄養化の対策において非常に重要であると考えられる。

しかし、藻類増殖試験において藻類の接種、植え継ぎなどの生物学的な手法は避けることができず、また実験装置などにおいても藻類培養のための特殊な器具を用いたりする場合もあり、工学分野の技術者、研究者が広範に用いる場合の妨げとなっている。

本論文においては一般の藻類増殖試験に比べると試料も小容量であり、培養法、藻類量の測定法などにおいても比較的簡易な試験方法を用い、この試験方法に対する検討、さまざまな栄養塩レベルの試水への適用性、三次処理水などの評価、藻類増殖モデルの検討などを行なった。

さらに、本論文においては富栄養化の指標生物としてウキクサを用いることに関する検討を行なった。ウキクサは顕花植物であるにもかかわらずあたかも微生物の分裂のごとき無性的な増殖形態を有し、また光などの栄養塩除去に用いる試みがなされるなど取り扱いが非常に容易であるなどの点において特異な存在である。これまでも毒性試験としてウキクサを用いた例はあるが、富栄養化の指標として用いられた例はほとんどない。本論文においては富栄養化の指標としてウキクサ培養試験を行なう際の基礎的な検討、自然水の評価、統計的な検討などを行なった。

本研究が藻類増殖試験の簡易法およびウキクサ培養試験の実用化の一助となれば幸いである。

第 1 章 緒 論

第 1 節 概 説

湖沼や海域における富栄養化が社会的な問題として取り上げられて久しいが、赤潮の発生などは富栄養化の典型的な 1 例であり、このほかにもさまざまな現象をひきおこす。富栄養化の原因としては栄養塩の水域への流入があげられているが、その制限因子としては窒素、リン、無機炭素、その他の微量元素などがあげられており議論が分かれている。

本章においては本論文の研究内容である富栄養化の生物指標が富栄養化の把握において果たす意義を明らかにするため、富栄養化現象、窒素とリン、生物指標などに関して文献的な考察を行なった。

第 2 節 富 栄 養 化 現 象

(1) 富栄養化

富栄養化 (Eutrophication) は近年衛生工学分野をはじめとして大きな問題としてとりあげられてきているが、元来は陸水学の分野において湖沼の遷移に関して用いられてきた用語である。湖沼の遷移に関しては湖盆形態、水生植物群落¹⁾、湖沼標式などにより分類されているが、一般に湖沼標式による分類が広く行なわれており、次に示す吉村²⁾による湖沼標式による分類が広く受け入れられている。

- I) 調和湖沼標式 (harmonic lake type)
 - 1) 貧栄養型 (oligotrophic type)
 - 2) 富栄養型 (eutrophic type)
- II) 非調和湖沼標式 (disharmonic lake type)
 - 3) 腐植栄養型 (dystrophic type)
 - 4) 酸栄養型 (acidotrophic type)

5) アルカリ栄養型 (alkalitrophic type)

さらに貧栄養型と富栄養型の中間に中栄養型を考える場合も多いが、中栄養は非常に不安定で富栄養への過渡的段階であって数量的な位置付けは意味がないとする研究者もいる³⁾。つまり陸水学において富栄養化とは湖の誕生から数千年、数万年を経て現原となつてゆく自然状態での過程を意味した用語であつたが、近年一般に用いられている富栄養化とは人類の生産活動の教化や人口の増大など人為的な原因による水域における栄養塩の増加、1次生産者の異常増殖などを意味し、内湾などの海域や河川などに対しても用いられている。この人為的な富栄養化は数十年あるいはそれ以下の短期間に多量の栄養塩が水域に流入すること、藻類の異常増殖などの非常に不安定な状態をひき起こすこと、土砂など無機質の流入をそれほど伴わないことなどの点において陸水学における富栄養化と異なっている。現在一般に問題となっているのはこの人為的な富栄養化であり、以後これを単に富栄養化あるいは富栄養化現象と呼ぶこととする。貧栄養および富栄養状態の比較を湖沼に関して表-1-1に⁴⁾、海域に関して表-1-2⁵⁾に示す。

(2) 富栄養化の指標

富栄養化により水域にさまざまな変化が生じるがその進行の程度を評価する際に次のような指標が用いられてきた。

- 1) 物理的な指標
 - a) 透明度
 - b) 水色
- 2) 化学的な指標
 - c) 溶存酸素濃度
 - d) 栄養塩濃度
 - e) pH
- 3) 生物学的な指標
 - f) プランクトンの質的、量的構成

- g) 生物の質的, 量的構成
- h) クロロフィル量
- i) 1次生産量

これらの指標について以下に概説する。

a) 透明度は直径 30 cm の白色円板 (Secchi's disc) により測定を行なう。透明度はセストン量やクロロフィル量と関係し, また相対照度 (水面下 1 cm の明るさを 100 % とする) ととも関連が強い。

b) 水色の測定にはフォーレルの標準色階が用いられる。I ~ XII の段階に分かれ I ~ IV は藍色, V ~ VII は緑色, VIII ~ XII は黄色であり, 濁った水ほど黄色に見える。

c) 溶存酸素濃度 (DO) の水深による差は貧栄養湖においてはあまり認められない。富栄養湖においては夏季停滯期に成層が生じ, 表水層で増殖したプランクトンの分解が深水層でおこるため深水層の溶存酸素が減少し嫌氣的状態となる場合もある。この概念図を図-1-1 に示す。⁶⁾

d) 栄養塩濃度は富栄養化と最も密接な関係があるが, 富栄養化の制限因子として窒素, リンが最も重要であると考えられており, この他にも無機炭素, 鉄, ケイ素, ビタミンなどの微量物質などがあげられている。表-1-3 に日本の調和型湖沼と河川水中の化学成分濃度をあげる。⁷⁾

e) 湖沼の pH は普通中性であるが, 有機物の分解による有機酸の生成による pH の低下や藻類の急激な増殖における炭酸の利用による pH の上昇など水域の一部に異常な pH を示すことがある。

f) プランクトンは普通植物性および動物性に分類されるが, *Anabaena* などらん藻類は水の華の原因となり, *Noctiluca*, *Gymnodinium*, *Hornellia* などは赤潮の原因と考えられている。このように富栄養化に伴いある種のプランクトンが異常に増殖し, 生態学的に不安定な状態になることが多く, プランクトンの種類や量の把握は重要な富栄養化の指標となる。

g) 魚類などにおいて高級魚と呼ばれるサケ, マスなどは富栄養化とともに姿を消し, コイ, フナなど汚染に強い種類が出現するなど, その他の生物においても生物相に変化を

生ずる。

h) クロロフィルは主に植物性プランクトンに含まれアセトン抽出後比色法により測定を行ない、比較的容易に植物プランクトン量の把握が可能である。

i) 1次生産量は放射性同位元素でラベルした炭素による同化速度の測定や、酸素消費速度の測定⁸⁾などにより求めうるものであり、富栄養化水域では大きな1次生産量を示す。

これらの指標により富栄養化の度合を把握する場合、物理的、化学的な指標のみでは非常に困難であり、生物学的な指標が不可欠である。しかも総合的な評価、着在的な富栄養化の評価という点からは、これらの生物学的指標に加えて、本論文において研究を行なった藻類の培養によるAGPによる評価が非常に重要であると考えられる。

(3) 湖沼の窒素とリン

1) 窒素とリンの性状

窒素はタンパク質の構成要素として生物にとって重要である。湖沼の表層水中の全溶解性窒素の50%あるいはそれ以上が有機性の窒素であり、有機性窒素の60~80%はアミノ酸、ポリペプチド、たんぱく質などのアミノ化合物であると考えられている。無機性窒素にはアンモニア性、亜硝酸性、硝酸性、分子状窒素などがあり、微生物活動などにより複雑な循環をしているものと考えられる。

リンは生体内で本質的な成分である核酸の成分として重要な役割を果たしている。核酸は塩基：糖：リン酸=1：1：1（モル比）よりなる高分子化合物であり、デオキシリボ核酸（DNA）とリボ核酸（RNA）が存在する。DNA、RNAを図-1-2に示す。⁹⁾核酸は最近の分子遺伝学の発達により遺伝情報の伝達に重要な役割を果たしていることが明らかになった。¹⁰⁾ またリンはアデノシンジリン酸（ADP）からアデノシントリリン酸（ATP）への変換による生体内のエネルギー蓄積に重要な役割を果たしている。このようにリンは生物にとって非常に重要な元素であり、リンなしに生物は生きていけない。¹¹⁾

リン酸は P_2O_5 と水とが種々の割合で結合し形成される $P_2O_5 \cdot nH_2O$ なる一連の酸であり、オルトリン酸 H_3PO_4 ($1/2 P_2O_5 \cdot 3/2 H_2O$)、メタリン酸 HPO_3 ($1/2 P_2O_5 \cdot 1 H_2O$)、トリポリリン酸 $H_5P_3O_{10}$ ($1/2 P_2O_5 \cdot 5/6 H_2O$) などさまざまな形態を有し、¹²⁾ また有機性リン酸としても存在する。分析学上からは表-1-4

のごとく分類されている。¹³⁾

このように窒素、リンは非常に複雑な形態を有し、自然の生態系の中でさまざまな変化をしており、それらを完全に再現することのできないAGPは非常に特殊な状況における1つの評価と考えられ、現象への適用および評価には十分の注意を要する。

2) 湖沼の窒素、リン濃度

日本の各地の湖沼において栄養塩濃度特に窒素濃度、リン濃度の測定が行われ、富栄養化現象との関連について研究されてきた。ここで日本の代表的な湖として富栄養湖の諏訪湖と貧栄養湖の琵琶湖もとらあげ、水質の変化について述べる。

諏訪湖では古くから詳細な調査がなされてきた。諏訪湖の水質の変化を表-1-5に示す。¹⁴⁾ 表-1-5より1910年頃は貧栄養湖であったことがわかるが現在では典型的な富栄養湖である。夏季には底層は無酸素となり風上側に黒褐色の底層水が浮上し「すす水」と呼ばれる現象が起こり、またアオコ *Microcystis* が水の華となって湖面全体を被い、表層水の溶存酸素は160~200%の過飽和状態となる。¹⁵⁾ 諏訪湖における植物プランクトンの総生産量の変化を図-1-3に示す。¹⁵⁾

琵琶湖においても詳細な調査が行われてきた。図-1-4-a, 図-1-4-bに琵琶湖のリンおよび窒素濃度の変化を示す。¹⁶⁾ 琵琶湖の容積は約275億 m^3 であり諏訪湖の約500倍の容積であって諏訪湖ほど容易に富栄養化せず、貧栄養を保ってきたが、1961年における臭い水問題の発生や、1977年北湖におけるいわゆる赤潮の発生により富栄養化への兆候が認められる。

諏訪湖、琵琶湖以外の湖沼および瀬戸内海、東京湾、伊勢湾などの海域などにおいても窒素、リンなどの栄養塩濃度の調査が行われ富栄養化の研究が進められている。¹⁷⁾¹⁸⁾

外国特に北アメリカやヨーロッパにおいても湖沼に関する調査が行われており、マジソン湖群、ワシントン湖、タホー湖、バイエルン湖などに関しては津田によりその紹介がなされている。¹⁹⁾

本論文においては、主に鴨川水系河川水、琵琶湖湖水を対象とし、水質の測定、生物培養試験などを行ない検証を加えた。

(4) 富栄養化の影響

富栄養化により魚類の量やのりなどの生産量が増加し有益な場合もあるが多くの場合は水質の悪化や水産資源の劣化を引き起こし好ましくない。以下に富栄養化の影響をあげる。

- a) 浄水場においてろ過機の閉塞を引き起こす。
- b) 水道水の異臭味の原因となる。
- c) 底泥中の鉄、マンガンなどを溶出させ赤水の原因となる。
- d) 有害な藻類による健康被害を引き起こす。
- e) 過剰な生長や生長阻害など農業生産に障害を起こす。
- f) サケ、マスなどの高級魚は消失し、経済的に価値の低い魚が多くなり、魚類の繁殖を招く場合さえ生じる。
- g) 悪臭や外観の劣化により観光、レクリエーションの価値を損ねる。

(5) 窒素、リンの負荷および富栄養化モデル

富栄養化に直接影響を与えると考えられている窒素、リンの水域への負荷量に関してもさまざまな研究が行なわれている。1969年における日本のアンモニアに関連する生産量およびリン製品生産量を図-1-5-a, 図-1-5-bに示す。²⁰⁾ 肥料などとして窒素、リンが自然界へ排出された場合、窒素においては空気中の窒素ガスの固定や逆に脱窒作用などにより複雑な循環をしていると考えられるが、リンにおいては陸上の生物に摂取されるか土壌中に保留される以外のリンは水域へ流入するものと考えられる。

水域への窒素、リンを流入させる原因としては農業排水、家庭下水、工場排水などがあげられる。雨水中の栄養塩濃度なども近年増加の傾向にあるが、その負荷の比率は他に比べて大きくはない。²¹⁾ 農業排水においては肥料および家畜からの負荷が大きいと考えられる。一般にリンは土壌へ残留する率が高く、窒素は流出率が高い。家庭下水の栄養塩の主なものは尿尿および糞便によるものである。表-1-6に薬剤による汚濁負荷および負荷原単位を示す。²²⁾ 薬剤によるリンの負荷が富栄養化との関係が強いとして粉石けんを使用する動きもある。工場排水に関しても、さまざまな業種の工場より窒素、リンが水域へ流入していると考えられる。琵琶湖の水質とこれらの汚濁源からの負荷との関係および将来

推定に関して詳細な検討がなされている。²³⁾

富栄養化現象は窒素、リンなどの栄養塩の流入負荷のみで決定されるわけではなく、水、底泥、生物などに関連した複雑な機構により成り立っている。したがってこれらの機構を解明するためさまざまな富栄養化モデルが検討されている。図-1-6に示すモデルによりStone LakeのリンとCODの予測を行なった研究や、²⁴⁾ 感潮水域における水と底泥を含めた富栄養化モデル²⁵⁾などが検討されている。

しかし、多くの場合に適用できる一般的なモデルの作成は今のところ非常に困難であると考えられる。

(6) 赤 潮

プランクトンの異常増殖により水の色がふだんより著しく変化した場合、湖沼では水の華、海域では赤潮と称している。このような現象の原因生物は紅色色素を体内に有するイオウバクテリア、青緑色または褐色の色素を持ったらん藻類、黄緑と黄、赤、緑褐色および緑色の色素体を持った藻類ならびにべん毛虫類、および体内に藻類が共生している絨毛虫である。日本の沿岸水域に発生する赤潮はけい藻とべん毛藻類の異常増殖によって起こることが多く、赤潮はミクロプランクトン、ナノプランクトンにより潮の色が変化する場合に用いられ、マクロプランクトンの場合には用いられない。²⁶⁾ 日本沿岸においては内湾や瀬戸内海において赤潮が発生しており瀬戸内海では重大な漁業被害を生じている。図-1-7に瀬戸内海の赤潮発生件数を示し、²⁷⁾ 表-1-7に赤潮べん毛藻類の特性を示す。²⁸⁾ 瀬戸内海の赤潮プランクトンとして従来 *Noctiluca*, *Gymnodinium*, *Ceratium* およびけい藻類の *Skeletonema*, *Coscinodiscus* などがあげられていたが、1966年頃から新たに *Heterosigma*, *Rhodomonas*, *Protocentrum*, *Peridinium*, *Gonyaulax*, *Eutreptiella*, *Exuviaella* など各種のべん毛藻が出現し、赤潮プランクトンの種類は30種以上に及んでいる。²⁹⁾ 1970年、広島湾におけるイマチの発生状況を図-1-8に示し、1972年における瀬戸内海の赤潮発生海域を図-1-9に示す。³¹⁾

淡水におけるプランクトンの異常増殖は水の華と呼ばれるが、琵琶湖において1977年、1978年春に発生したプランクトンの異常増殖は一般に赤潮と呼ばれている。³²⁾ これ

は水の華は水面を層状あるいは塊状に緑色で被うというイメージが一般に強いが、琵琶湖での発生状況は褐色、帯状のものが多く、海軍の赤潮の形態に類似していたためと思われる。琵琶湖においても赤潮という用語を用いる生物学者も多く、淡水赤潮なる用語も用いられる。

後に述べるごとく、琵琶湖における赤潮の原因となったプランクトンはべんも藻類の *Uroglena* であり、本論文において研究を行なった緑藻類やウキウサによる評価とべんも藻類などによる赤潮発生との関連は非常に興味深い課題であるが、まだ全く検討には至っていない、今後の検討課題である。

第3節 富栄養化の生物指標

生物を用いた水質評価法は、(1)野外調査による生物の種類や量による判定法、(2)水路実験、(3)実験室内における生物培養試験法などに分類できる。

(1) 野外調査

野外の生物調査による水質判定においては有機汚染に関して Saprobien system (汚水生物体系) が広く用いられてきた。これは生息する生物により、

polysaprobic	多腐水性
α -mesosaprobic	α -中腐水性
β -mesosaprobic	β -中腐水性
oligo saprobic	貧腐水性

という段階の汚濁階級に分類するものであり、これと栄養階級との関係を表-1-8に示す。³³⁾ また生物群集の優占種により判定する考え方や生物指数により判定しようとする考えもある。たとえば汚濁に耐えない種数をA、汚濁に耐える種数をBとし、 $I = 2A + B$ なる生物指数を用いる方法や、藻類の種数により

$$\text{複合商} = \frac{\text{らん藻類} + \text{緑藻類} + \text{中心類} + \text{ユーグレナ類}}{\text{藍藻類}}$$

を求め、複合商が1以下では貧栄養、1～2.5では弱富栄養、3～5では中栄養、5～20では著しく富栄養であるとする方法などがある。³⁴⁾

Saprobiansystem において用いられる生物はバクテリア、藻類、絨毛虫類、環形動物、輪虫類、軟体動物、甲殻類、昆虫類など多岐にわたっているが、特に藻類を主とするプランクトンの種類およびその量は富栄養化の進行状況と密接に関係しており詳細な調査、研究がなされてきた。

人間の生活圏内に位置する北、湖では常に生活活動の影響を受けており富栄養化しやすい。たとえばMalaccaの泉眼養魚池において7月に木の華が発生した。*Anabaenopsis philippinensis* が多量に発生し、その死滅により溶解酸素が減少し、同時に水中に毒物が放出されたことにより大量の魚が死滅し、これら死滅した藻類からの栄養塩の放出により細菌やべん毛虫類の増殖が起り、ついで輪虫類などの動物性プランクトンが著しく増殖した。³⁵⁾ 湖の例ではClear湖において赤潮の観測が行われた。4～6月の観測では *Peridinium* sp., *Aphanizomenon flow-aguae* が高濃度で存在したが、*Peridinium* と窒素濃度には相関性がなく、*Peridinium* による窒素固定は認められなかった。

藻類は季節によってその出現種が異なっている。Tahoe湖における藻類の観測が行われ、冬には雪どけの水などにより緑藻類の *Spirogyra nitida* が優先種であったが、5月には *Spirogyra* の死滅によってかわり同じ緑藻の *Ulothrix* が出現し、7月には水面は *Ulothrix* 群で緑色におおわれた。^{37) 38)} またSebasticoock湖における藻類の調査において、春には *Anacystis* sp., 夏には *Golenkinnia* sp., *Microctinum* sp., 秋には *Melosira* sp., *Anacystis* sp. が優先種であった。³⁹⁾

藻類を単に種の同定と現存量としてではなく、その光合成量やクロロフィル量として表わすこともある。Minnetonka湖における調査において藻類による光合成量が測定され、夏期においてはリンとクロロフィル量および光合成量との関係は線形関係であったが、春、秋にはなんらの関係も見られなかったと報告されている。⁴⁰⁾ また2つの湖の藻類によ

る窒素固定に関する調査の結果、窒素固定は2~10月においてみられ、硝酸塩とアンモニアの濃度が低い時に起こることが明らかとなった。優生種としては *Microcystis*, *Anabaena* があげられ、*Anabaena* が重要な窒素固定生物と考えられた。⁴¹⁾

湖への栄養塩の流入源の1つとして都市下水が大きな要素と考えられ、下水処理水と藻類との関係が Duwamish 河口において調査され、*Skeletonema*, *Thalassiosira* が優生種であったが、藻類の増殖は下水処理水の栄養塩のみが原因でなく放流量、潮の影響を受けていることが明らかとなった。⁴²⁾

水草を生物指標とする研究は藻類の場合ほど広範には行なわれていない。富栄養化によりプランクトンと水草との比率に変化を生じるが、その関係を図-1-10に示す。また富栄養化に伴い在来のお草が衰え外来のお草が繁茂する場合もある。外来のお草には求水植物の コカナダモ *Elodea nuttallii*, オオカナダモ *Elodea densa*, フサジュンサイ *Cabomba caroliniana*, 半抽水植物の オオフサモ *Myriophyllum brasiliense*, 浮葉植物の ホテイアオイ *Eichhornia crassipes* などがある。琵琶湖においては1963年ごろからコカナダモが荒湾などで大発生し、1971年以降ではあちこち沿岸部で生育するようになったが、1971年オオカナダモが発見されて以来コカナダモより汚染に強いことから次第にコカナダモを駆逐しながら広がっている。⁴³⁾

これらの野外調査は富栄養化の把握に不可欠であり、できるだけ詳細になされなければならないが、生物調査には専門的な知識が必要であり、再現性などの点においても問題がある。したがって、富栄養化の存在能力であるAGPなどと共にこれらの野外調査を理解していく必要がある。

(2) 水路実験

野外の生物調査と実験室内での小容量の試水を用いた培養試験との中間物として水路による実験研究が行われてきた。

藻類への窒素の影響を水路実験により検討した結果、アンモニア性窒素濃度が16 mg/l以下においてはアンモニア、尿素の添加により藻類の生産量が増大したが、アンモニア性窒素45 mg/lでは20~30 mg/lの場合の半分以下になり、55 mg/l以上では藻類は腐敗しはじめた。⁴⁴⁾ 野外においては藻類は単に栄養塩だけでなく、物理的因子の影響

を受ける。水路実験により、構成される付着生物群落と流速および照度の関係が検討された。けい藻の *Gomphonema*, *Melosira*, *Merridion*, *Navicula*, *Nitzschia*, じん藻の *Phormidium*, *Anabaena*, 黄緑藻の *Stigeoclonium* などについて検討した結果、流速、照度に関して各藻類はそれぞれ特有な傾向を示し、照度、流速が低い方が増殖量が多いものもみられた。⁴⁵⁾ 藻類によって栄養塩を除去しようとする試みもなされた。2次処理水を残い水路に流し藻類による窒素およびリンの除去に関する実験が行なわれ、CODも減少することが示された。実験中の藻類として *Oscillatoria brevis*, *Senedesmus byugatis* が観察された。⁴⁶⁾

大竹らにより2次処理水を用いた野外の水路実験が行なわれ、そのデータに基づくシミュレーションの結果は多摩川の現状とよく一致した。リンに関して、付着藻類による自浄効果は負荷量の約15%, また負荷量の約70%は東京湾へ流出していると推定された。⁴⁷⁾

これらの水路実験は現実の状況をかなり再現することができると考えられるが、再現性などの問題点もあり、現実の問題への適用には十分注意を要すると考えられる。

(3) 生物培養試験法

生物の培養による試験は一般に Bioassay (生物検定) と呼ばれており、これには毒性試験と増殖試験が含まれる。毒性試験にはバクテリアによる抗生物質の定量法⁴⁸⁾ から魚類による水質判定までさまざまな生物により毒性の検定が行なわれている。増殖試験は生物の培養により栄養塩や増殖刺激物質などの検定を行なうものであり、本論文における研究もこれに属している。

藻類増殖試験は水質を総合的に評価でき、再現性においてもすぐれており、着在的な富栄養化能力を把握できるなどの利点を有しており、富栄養化の重要な評価手段となる。

以上のような富栄養化および富栄養化の生物指標に関する考察より、本論文においては富栄養化の指標としての藻類培養試験、ウキワサ培養試験もとりあげ、その簡易な試験法の確立のための基礎的な研究を行なった。

参 考 文 献

- 1) 中野治房: 植物学雑誌, 30, 31 (1916)
- 2) 吉村信吉: 湖沼学, 三省堂, 東京, 426 (1937)
- 3) 田中正明: 湖沼の栄養型分類について, 水処理技術, 18, 635 (1977)
- 4) 滋賀大学湖沼研究所編: びわ湖, 三共出版, 東京, 122 (1974)
- 5) 日本水産学会編: 水圏の富栄養化と水産増養殖, 恒星社厚生閣, 東京, 96 (1973)
- 6) C. N. Sawyer: Basic Concepts of Eutrophication, J. W. P. C. F., 38, 737 (1966)
- 7) M. Sakamoto: Primary Production by Phytoplankton Community in Some Japanese Lakes and its Dependence on Lake Depth, Arch. Hydrobiol., 62, 1 (1966)
- 8) 関文蔵: 水界微生物生態研究法, 共立出版, 東京, 61 (1976)
- 9) 江上不二夫: 生化学, 岩波書店, 東京, 37 (1964)
- 10) 大沢文夫: 新講生物, 三省堂, 東京, 348 (1969)
- 11) E. S. Deevey Jr.: Mineral Cycles, Scientific America, 223, 148 (1970)
- 12) 玉虫文一ほか: 理化学辞典, 岩波書店, 東京, 1438 (1935)
- 13) 日本下水道協会編: 下水試験方法, 132 (1974)
- 14) 山岸忠, 沖野外輝夫: 湖沼の汚染, 築地書館, 東京, 77 (1974)
- 15) 坂本充: 富栄養化と生物生産, 用水と廃水, 15, 25 (1973)
- 16) 藤永太一郎編: 琵琶湖の動態, 時事通信社, 東京, 131 (1974)
- 17) 村上彰男: 都市・産業廃水と富栄養化, 用水と廃水, 19, 15 (1977)
- 18) 西條八束: 内湾の富栄養化, 用水と廃水, 15, 9 (1973)
- 19) 津田松苗: 富栄養化は救えるか, 用水と廃水, 15, 3 (1973)
- 20) 浮田正夫ほか: 富栄養化の原因と対策, 公害と対策, 8, 477 (1972)
- 21) 土木学会: 水質変化予測基本調査報告書昭和50年3月, 107 (1975)

- 22) 寺田正夫ほか：家庭下水における洗剤類の汚濁負荷量，下水道協会誌，14，
(161)，14 (1977)
- 23) 土木学会：琵琶湖の将来水質に関する調査報告書
- 24) M.W. Tenny *et al.* : Biological Modeling of Eutrophic Lakes for Water Quality Improvement, Presented at Fifth Internat. Conf. on Water Pollution Res., San Francisco (1970)
- 25) W.R. Rchofield *et al.* : Deterministic Model of Dynamic Eutrophic Estuary, Proceedings of the A.S.C.E., 100, 979 (1977)
- 26) 羽田良示：赤潮プランクトンの研究，用水と廃水，15，55 (1973)
- 27) 瀬戸内海水産開発協議会：瀬戸内海の赤潮，1，(1971)
- 28) 岩崎英雄：赤潮類と藻の生理，生態，日本水産資源保護協会，東京，77 (1972)
- 29) 岩崎英雄：富栄養化と赤潮発生，用水と廃水，15，47 (1973)
- 30) 木村知博：沿岸海域の富栄養化と水産，用水と廃水，15，62 (1973)
- 31) 村上彰男：赤潮と富栄養化，公害対策同友会，東京，66 (1976)
- 32) 京都新聞：赤潮を追う，昭和53年6月27日
- 33) 津田松苗：水質汚濁の生態学，公害対策技術同友会，東京，151 (1972)
- 34) 津田松苗：汚水生物学，北隆館，東京，140 (1964)
- 35) G. Dunn : Recovery of a Tropical Pond Zooplankton Community after Destruction by Algal Bloom, Limn. Ocean., 15, 373 (1970)
- 36) A. J. Horne *et al.* : A Freshwater "red tide" on Clear Lake, Clifornia, Limn. Ocean., 16, 684 (1971)
- 37) R. F. Smith and H. F. Ludiwig: Eutrophication Mechanisms at Lake Tahoe-I. Source of an Exogenous *Spirogyra* Bloom on the South Shore, January - 1967, Wat. Res., 2, 615 (1968)

- 38) R. F. Smith and H. F. Ludwig: Eutrophication Mechanism at Lake Tahoe-II. Source of an Endogenous *Ulthrix* Bloom of the South Shore, July, 1967, *ibid.*, 2, 625 (1965)
- 39) K. M. Mackenthum *et al.*: Nutrient and Algae in Lake Sebastcook, Maine, *J.W.P.C.F.*, 40, R72 (1968)
- 40) R. O. Megard: Phytoplankton, Photosynthesis and Phosphorus in Lake Minnetonka, Minnesota, *Limn. Ocean.*, 17, 68 (1972)
- 41) J. J. Goering and J. C. Neess: Nitrogen Fixation in two Wisconsin Lakes, *Limn. Ocean.*, 9, 530 (1964)
- 42) E. B. Welch: Phytoplankton and Related Water-quality Conditions in an Enriched Estuary, *J. W. P. C. F.*, 40, 1711 (1968)
- 43) 日本生態学会環境問題専門委員会編: 環境と生物指標2, 共立出版, 東京, 90 (1975)
- 44) C. G. Golueke *et al.*: Effect of Nitrogen Additive on Algal Yield, *J. W. P. C. F.*, 39, 823 (1967)
- 45) C. D. McIntire: Physiological-ecological Studies of Benthic Algal in Laboratory Streams, *J. W. P. C. F.*, 40, 1940 (1968)
- 46) J. Hemens and M. H. Mason: Sewage Nutrient Removal by a Shallow Algal Stream, *Wat. Res.*, 2, 277 (1968)
- 47) 大竹久夫ほか: 昭和50年度第27回日本醸造工学会大会要旨集, 日本醸造工学会, 124 (1975)
- 48) 緒方浩一: 応用微生物学概論, 東京同文書院, 東京, 108 (1972)

第2章 藻類増殖試験法に関する基礎的研究

第1節 概説

富栄養化を生物指標により評価する場合、野外における調査のみでは地域的、時間的に一般性のある評価がなされにくいという欠点がある。室内において採水された試料に藻類を接種しその増殖量を測定することにより、より一般性のある富栄養化の評価が可能となる。したがって富栄養化の現状の把握や予測においてAGP (Algal Growth Potential: 藻類増殖の潜在力) を把握することは衛生工学をはじめとする広い分野の研究者にと、て重要な課題であると考えられる。

AGPの測定法である藻類増殖試験における供試藻類、培養手法、藻類量測定法にはさまざまな種類がありそれぞれ長所、短所を有している。本論文においては、生物学を専門とする研究者以外の広範な人々によってもAGPの測定が可能となるよう、できるだけ生物学固有の特殊な手法を除いた比較的簡易な試験方法を採用しこれに対する検討を行なった。またこの試験方法により各種の栄養塩レベルの試水のAGPに対する検討を行ない、連続培養により増殖速度に対する検討を行なった。さらにこれらの藻類増殖に関する理論的考察を行ない、藻類増殖モデルについて検討を加えた。

第2節 AGPに関する文献的考察

AGPの測定が本格的に始まって以来約10年になり、基本的な手法については確立しつつあると言える。ただし試験方法を統一し地域的に客観性のある知見を得ようとする立場もあれば、各々の水域に即した試験方法を採用しようとする立場もあり、また実験手法の改善もなされており目的に応じた試験方法の選果が必要である。さらに、さまざまな試水により応用的な実験が行なわれ、現在では水質基準に準じた形での実用化の段階に至っている。以下に試験方法、AGPの応用、連続培養に関する文献的考察を行なう。

2-1 試験方法

AGPの測定は1956年Bringmann¹⁾²⁾により*Senedesmus*を用いて行なわれ、つづいて1966年Skulberg³⁾により*Selenastrum capricornutum*を用いて行なわれた。その後富栄養化への関心が高まり、米国環境保護庁(U. S. Environmental Protection Agency)を中心に組織されたNational Eutrophication Research Program (NERP)によって標準的な藻類培養試験法が提出された。これは(1)バッチ式試験、(2)連続式(ケモスタット)試験、(3)野外試験から成り立っており、Provisional Algal Assay Procedure (PAAP)として発表された⁴⁾。PAAPにさらに改良が加えられ最も実用性の高いバッチ式試験を発展させ、Algal Assay Procedure Bottle Test (AAP)として発表された。⁵⁾その後、AAPの応用に関していくつかの報告がなされた。⁶⁾⁷⁾またStandard Methodsにおいても第14版より新たにAGPの試験方法を採用したが、これもAAPと同一の方法である。⁸⁾

(1) 藻類

単一の藻類を用いてAGPを測定する場合、藻類の種類により水質の反映の仕方が異なってくると考えられ、藻類の種類の選択は重要な問題である。AAPにおいては、緑藻の*Selenastrum capricornutum*、藍藻固定を行なわないらん藻の*Microcystis aeruginosa*、藍藻固定を行なうらん藻の*Anabaena flos-aquae*が採用されている。世界的に*S. capricornutum*が標準的な藻類種として最もよく用いられている。*S. capricornutum*は米のような特徴を有している。

- 1) 単細胞で固定が容易である。
- 2) 環境条件による形態学的変化が少ない。
- 3) 貧栄養、富栄養のどちらにも出現し、大量には繁殖しない。
- 4) らん藻のように高い水温を要求せず、普通年2回、4～6月、8～11月に繁殖する。
- 5) 凝集しにくい。

6) 培養が容易で安定した増殖が得られる。

7) 強い酸, アルカリにも耐える。

S. capricornutum 以外にも供試藻類としてさまざまな種類が用いられるが, 培養手法上の問題や正確に水質を反映する必要性より, 上にあげた *S. capricornutum* の特徴と類似の特徴を有していることが望ましい。一般に *S. capricornutum* のほか *Anabaena*, *Microcystis*, *Nostic* などが用いられている。日本においては *Chlorella* sp., *Stigeoclonium tenue*, *Chlamydomonas* sp., *Nitzschia palea* などが用いられている。^{9) 10)}

特定の水域における富栄養化の予測をしたりその機構を研究しようとする場合は, その水域における優占種を用いるなども必要であろう。一般には単一の藻類を用いる場合が多いが, 2種以上の藻類を持種しその種の変化により評価する方法もある。

(2) 培地

藻類を植え継ぎながら保存し, ほぼ同一条件の藻類を試水に接種するために適切な合成培地が必要である。

藻類の培養培地には, 一般藻類用培地, 緑藻用培地, 藍藻用培地などがあり, 培養する藻類により, また研究者によりその組成は異なっており, 培地の種類は非常に多くの数にのぼる。¹¹⁾ PAAPの培地に関しては炭源溶液や窒素の制限濃度などについて検討が加えられ改良されていった。¹²⁾ AAPにおいて用いられる培地は Algal Assay Medium (AAM) と呼ばれるが, その組成を表-2-1に示す。このAAMの特徴は他の一般の培地と異なり窒素, リン濃度が低いことである。これは培養藻類細胞による過剰な窒素, リンの持ち込みを防ぐためのものであり, 栄養塩濃度の低い試水においては特に注意を要する問題点である。

(3) 培養容器

培養容器には 100 ~ 1000 ml のエルレンマイヤーフラスコが用いられることが多い。AAPにおいては 500 ml のエルレンマイヤーフラスコを用いている。試水の表面積と

容積の関係より Standard Methods では次のような容器容量の基準を示している。¹³⁾

試水 40 ml — 125 ml フラスコ

試水 60 ml — 250 ml フラスコ

試水 100 ml — 500 ml フラスコ

小容量の培養容器としては Forsberg の用いた 9×75 mm の小さな試験管があり、試料容量は 1 ml である。¹⁴⁾ 大容量の培養容器には須藤らの用いた 1 l の L 字型培養管がある。¹⁵⁾

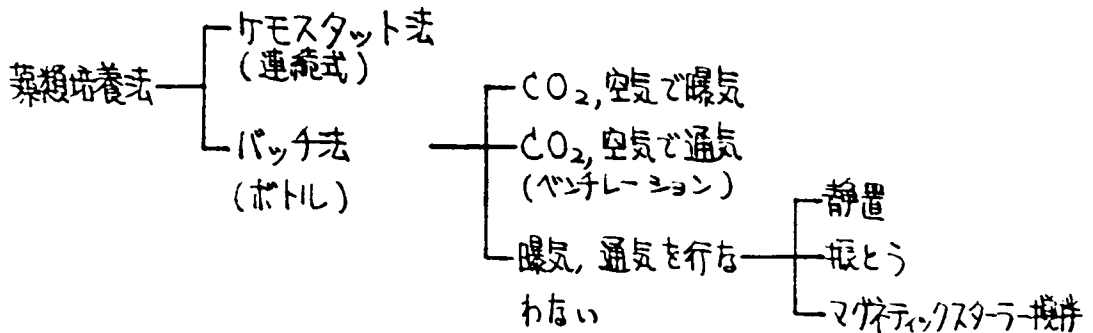
(4) 試水の前処理

AGP 測定においては培養した藻類の増殖により評価を行なうため、試水中の藻類、バクテリアを除去する必要がある。一般には $0.45 \mu\text{m}$ のミリポアフィルターによりろ過処理を行なうが、 121°C 、15 分間のオートクレーブ処理を行なう。ろ過処理した試料とオートクレーブ処理した試料とでは同一試料においても水質的に異なってくる。ろ過処理においては懸濁性物質や微生物体内などの栄養塩は完全に除去され、可溶性栄養塩のみの測定をすることになる。オートクレーブ処理においては懸濁性物質や微生物体内の栄養塩などは再溶解するものと考えられるが、揮発しやすい物質や熱分解しやすい物質を変質させ、またリン酸塩などの氷殿を起す可能性がある。

ろ過処理またはオートクレーブ処理を行なった試料による AGP の違いを図-2-1-a, 図-2-1-b に示す。¹³⁾ これらの図においてオートクレーブ処理による AGP の方が一般に高い傾向を示している。AAP において富栄養化した湖水を試料とした場合、 $0.45 \mu\text{m}$ フィルターろ過により COD は最大 72%, 全リンは 67% の減少がみられた。⁵⁾ メンブレンフィルターろ過処理, オートクレーブ処理, 紫外線照射処理を比較した結果, ろ過処理においては粒子やリン酸が除去され, オートクレーブ処理では pH の上昇, 氷殿, CO_2 の除去などが起り, 紫外線照射処理では窒素化合物の酸化が認められた。¹⁶⁾ また試水の硬度およびリン濃度と前処理とに関する研究においてはオートクレーブ処理により試水中の藻類より溶解性リンの溶出が認められた。¹⁷⁾

(5) 培養方法

藻類の培養方法は次のように分類される。



バッチ培養において CO_2 と空気の混合気体で曝気する方法は藻類の大量培養において最も一般に用いられているものであり、容器は液体培養用扁平フラスコやカザラ型培養フラスコなどが用いられる。ベンチレーションを行なうものにはP AAPにおけるバッチ培養があり、これは同時にロータリーシェーカーにより120 r.p.m.で振とうされる。容器は500 mlのエrlenmeyerフラスコを用い、250 mlの培地を入れ、150 mlのピレックスビーカーでふたをし、ベンチレーションを行なうもので、その装置図を図-2-2に示す。AAPにおいては500 mlのフラスコに100 mlの試料を入れるように改良された。

初期における藻類培養においては静置によるものも行なわれたが、培養期間が長いなどの欠点があり、現在は振とう培養が一般的である。マグネティックスターラーによる培養は CO_2 、空気曝気による攪拌が不十分な場合に行なわれるが、温度の上昇などの問題点がある。

(6) 培養条件

藻類の培養温度は20~25℃が一般的であり、AAPにおいては 24 ± 2 ℃とされている。らん藻は一般に高温の方が適しているようである。

光源には白熱灯、蛍光灯(白色、昼光色)などが用いられる。照度はAAPにおいて、

S. capricornutum では約4300 lux, *M. aeruginosa*, *A. flos-aquae* では約2200 luxとしている。植物は一般に飽和照度を有するが, *Chlorella ellipsoidea* では25℃において10000 luxで飽和点に近づき, *Tolypothrix tenuis* では32℃で8000 lux, *Nostic muscorum* では25℃の場合2600 luxで飽和に達する。¹¹⁾ しかし5370 luxでは3700 luxより増殖がおさえられるという実験結果もある。¹⁹⁾

3種のらん藻類 *Anabaena variabilis*, *Anacystis nidulans*, *Nostic muscorum* の培養実験が行われ, 最適温度は30℃以上であり, *A. nidulans* の41℃における増殖速度は1世代2時間であることが明らかとなった。²⁰⁾ PAAPに関する検討では, 藻類として *Selenastrum capricornutum* を用い24±2℃の条件において, 空気のみよりCO₂ を多く含む空気を送る方が増殖量は増した。¹⁹⁾

(7) 藻類量の測定

AGPにおける藻類量の測定には次のような方法がある。

- 1) 乾燥重量
- 2) 細胞容量
- 3) 吸光度 (600 ~ 700 nm)
- 4) 700フィルム
- 5) 顕微鏡による細胞数の計数
- 6) コールターカウンターによる細胞数の計数

藻類量の測定法の選択はその培養方法, 測定技術などにより決定されなければならない。

2-2 AGPの応用

AGPの応用に関する研究は次のような内容に分類できる。

- (1) 自然水の評価
- (2) 富栄養化の制限因子の推定
- (3) 下水処理水の評価
- (4) 栄養塩負荷因子, 増殖阻害物質などの評価
- (5) その他の培養法

(1) 自然水の評価

AGPの判定により湖沼, 河川, 海域などにおける富栄養化の状況を把握しようとする研究が行われている。

Chlorella sp. および *Stigeoclonium tenue* による関東地方の4つの水域のAGPを表-2-2に示す。⁹⁾ 表-2-2では観光地における富栄養化の傾向が認められる。日本の湖沼におけるAGPを表-2-3に示す。²¹⁾ Middle brooks による湖沼へ流入する4つの河川の影響に関する研究では, 藻類増殖速度による評価により1河川のみが藻類増殖を刺激していることが明らかとなった。²³⁾ Greene らはダム湖における植物プランクトンと *S. capricornutum* によるAGPとの関係について研究を行ない, 高い相関($r = 0.95$)を得た。²⁴⁾

(2) 富栄養化の制限因子の推定

試水に特定の栄養塩を添加し, そのAGPを測定することにより富栄養化の制限因子を決定しようとする試みがなされてきた。制限因子としては窒素, リン, 二酸化炭素, 鉄, ケイ素, その他の微量物質などがあげられているが, 窒素, リンが富栄養化に重大な影響をおよぼすことはまちがいない。

微生物の化学組成を表-2-4に示し,²³⁾ 藻類中の窒素およびリン含有比率を表-2-5に示す。¹¹⁾ また Chu,²³⁾ Rodhe,²⁵⁾ Gerloff ほかに²⁶⁾ 単種藻類培養実験によって明らかにした淡水性植物プランクトンの最適生長に必要な各種元素の最低要求濃度を表-2-6に示す。²⁴⁾ 表-2-6において窒素, リン, 鉄などの最低必要濃度が低い値となっているが, これらと水中の元素濃度により制限因子は決定されると考えられる。

以前から湖沼学の分野において, 水域における藻類増殖の制限因子としてリンがあげら

れており、²⁷⁾ Sawyer は17の湖の調査の結果、無機リン 0.015 mg/l , 無機窒素 0.30 mg/l を富栄養化の限界濃度とし、²⁸⁾ ほぼこれに近い値が一般に限界濃度として受け入れられてきた。

表-2-7は、Maloneyらがオレゴン州にある8つの湖から採取した水について藻類増殖量に対する窒素、リン、炭素の添加効果を検討した結果である。これら8つの湖のうちでDiamond湖、Triangle湖を除く6つの湖は富栄養湖で、そのうち4つではリンが制限因子である。²⁹⁾ 日本の湖水への窒素およびリンの添加実験の結果を表-2-8に示す。表-2-8においては、リンが制限因子となっている場合の方が多い結果となっている。³⁰⁾ このほかにもShapiroなどの研究者はリンを制限因子としている。³¹⁾

リンは水中においてすばやく生物体内に摂取され、その水中の濃度は常に低く保たれている。放射性リンを用いた実験によると、水中に添加されたリンの95%以上が20分以内にプランクトンに摂取されることが明らかにされている。³²⁾ また、らん藻と縮合リン酸との関係が培養実験により検討された。バッチ培養において、藻類として *Anabaena cylindrica*, *Anacystis nidulus*, *Gleocassa alpicola*, *Oscillatoria borneti*, *O. chalybia*, *O. formosa*, *O. tenuis*, *Phormidium foveolarum* が用いられ、3種の縮合リン酸が添加された。正リン酸は接種後7日ごろまで減少しその後増加するのに対し、縮合リン酸は8日ごろまで増加しその後減少していく。らん藻が減少増殖期に入ると、体内に摂取されたリンは再放出することが明らかとなった。³³⁾

窒素が富栄養化の制限因子であるとする説もある。たとえば、中央アフリカの9つの湖水に硝酸性窒素、リン酸リンを加えた藻類増殖実験においては、窒素および窒素とリンの両方により藻類増殖が認められ、リンの効果は少なかった。Erie湖においては、接種藻類としてらん藻類の *Anabaena circinalis*, *Microcystis aeruginosa*, *Nostic muscorum* を用いた静置培養により富栄養化の制限因子の検討がなされ、窒素が制限因子の場合が2/3、リン、コバルト、キレート鉄が制限因子の場合がそれぞれ1/3ずつであった。³⁵⁾ しかし、藻類は一般に窒素源としてアンモニウムおよび硝酸塩を利用するが、*Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aulosira*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Mastigocladus*, *Nostic*, *Oscillatoria*, *Tolypothrix* においては空気中の窒素

固定を行ない、大部分のらん藻類はアンモニア、亜硝酸、硝酸、アミノ酸、蛋白質などの各種の窒素を利用できる。したがって窒素が制限因子であることには疑問が残る。

リン、窒素が富栄養化の制限因子でなく、二酸化炭素の光合成制限濃度が低いらん藻類によって富栄養化が起こる場合が多いと考える研究者もいるが、³⁶⁾これは自然条件より高濃度の栄養塩での Lange の実験に基づいた結論である。³⁷⁾

この他にも制限因子として、鉄、ナトリウム、ビタミン B₁₂ など藻類増殖を刺激する物質が考えられている。³⁸⁾

(3) 下水処理水の評価

下水処理の評価は、現在まで多くの場合生物的に分解可能な有機物に注目してきたが、最近の富栄養化現象という問題により、下水処理の富栄養化への影響を検討する必要にせまられてきた。その多くは藻類培養試験法により、生下水、1次処理水、2次処理水、3次処理水の藻類増殖能力を測定しようとするものである。

E. J. Middlebrooks は窒素とリンが富栄養化の主要な因子であるが、必ずしも未決定因子かどうかは明らかではないとして、藻類として *Selenastrum gracile* を選び、Tahoe 湖水を用いて富栄養化の評価を行なった。³⁹⁾ *S. gracile* を 50 cell/ml となるように接種し、20℃、1830 lux のもとで 30 r.p.m. の振とうにより培養を行なった。バッチ培養における藻類の増殖する速さの指標である比増殖速度 μ_b の最大値 μ_{bm} による Tahoe 湖の季節的変化は、春に最も高く $\mu_{bm} = 0.430$ /日であって、夏は $\mu_{bm} = 0.159$ /日、冬は $\mu_{bm} = 0.293$ /日であり、春における栄養塩の増加による富栄養化への影響を示唆している。下水処理プラントからの流出水による μ_{bm} を表-2-9 に示す。またバッチ培養と連続培養(ケモスタート)による最大の増殖速度 μ_m の検討を行なった結果、理論上はバッチ培養における μ_{mb} は連続培養における μ_m より小さくなるはずであるが、実験結果は逆であり μ_{mb} は μ_m の約4倍となった。

E. G. Srinath らは、*Chlorella* sp. に *Anabaena* と *Microcystis* とを少し含む藻類を用い、2個の20 Wの蛍光灯を光源とし、10 ml の試料により藻類増殖量を検討した。⁴⁰⁾ その結果を表-2-10 に示す。表-2-10 において、活性汚泥処理水により大きな藻類増殖が認められる。

日本においては、森らによって河川および活性汚泥処理水の富栄養化の評価が行なわれている。⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾ 藻類として *Chlorella* sp., *Stigeoclonium tenue*, *Chlamydomonas* sp., *Nitzschia palea* を用い、試料 500 ml を 1000 ml の L 字型培養管に入れ、4000 lux, 20℃, 30 r.p.m. の振とう培養を行なった。多摩川の水に東京都下の下水処理場の処理水を添加し藻類増殖量の検討を行なったが、自然水と活性汚泥処理水との AGP の比較を図-2-3 に示し、*Chlorella* sp. と *Stigeoclonium tenue* との比較を図-2-4 に示す。⁽⁴³⁾

(4) 栄養塩負荷因子、増殖阻害物質などの評価

水域へ栄養塩を流入させ富栄養化に与える影響を与える負荷因子として、家庭下水中の洗剤、農業排水中の肥料、工場排水中のさまざまな栄養塩などがあげられている。また富栄養化機構の解明においては微生物による栄養塩の摂取や放出、底泥による栄養塩の吸着や放出などさまざまな因子の把握が不可欠である。AGP により洗剤、肥料、底泥その他の富栄養化に与える影響に関する研究が行なわれてきた。

洗剤中のリンは藻類増殖に大きな影響を与えると考えられる。洗剤、リン、ABS を添加した藻類培養試験が行なわれた。藻類には *Chlorella pyrenoidosa* が用いられ、23℃, 4300 lux で振とう培養され、*C. pyrenoidosa* の数は血球計算器で検数された。3 リン酸ソーダを添加したものは対照の3倍の増殖を示し、洗剤を添加した場合の増殖は3リン酸ソーダの場合よりも小さく、ABS を添加したものでは阻害作用を示した。

D. Mitchell によって、リンを含んだ洗剤とリンを含まない洗剤の藻類増殖への影響が Shannon の多様性指数により検討されたが、その差はほとんど認められなかった。⁽⁴⁵⁾ Francisco による実験においても、リンを含んだ洗剤とリンを含まない洗剤に関してはあまり有意な差は認められていない。⁽⁴⁶⁾

底泥に関してもさまざまな研究が行なわれてきた。*Selenastrum capricornutum* と *Cladophora* とを用いた培養実験により、湖泥による藻類増殖におよぼす影響を検討した結果によれば、水中のリンの湖泥への吸着により藻類の増殖は抑制されていると推定された。⁽⁴⁷⁾

高濃度の重金属などは藻類増殖を阻害すると考えられるが, *Selenastrum capricornutum* を用いて亜鉛の影響を検討した結果も図-2-5に示す。図-2-5において亜鉛の阻害作用は明らかであり, 100 μg の亜鉛を添加した場合より40 μg の添加の場合の方がより抑制作用が強い結果となっている。⁴⁸⁾ また, *Navicula seminulum*, *Selenastrum capricornutum*, *Microcystis aeruginosa*などを用いた亜鉛とキレート剤EDTAとの相互作用に関する研究においては, 図-2-6に示すごとく亜鉛の阻害作用はEDTAにより緩和されているという結果となった。⁴⁹⁾

(5) その他の培養法

これまでに検討を行ってきた藻類培養法の多くは単一の藻類を用い無菌的な条件下において培養を行なうものであり, 自然の条件とは全く異なっている。単一の藻類を用いる培養法のほか, 複数の藻類を用い無菌的に培養する方法, 無菌処理をせずバクテリアの存在下で培養する方法, 動物プランクトンをも含めた一種の Microcosm において培養する方法などさまざまな条件において研究が行なわれている。

D. Mitchellは藻類の増殖量を対照群と比較する方法ではなく, 複数の藻類群に生じる種の多様性の変化をみる方法を採用した。⁵⁰⁾ つまり9 lの試薬ビンに湖水7 lと底泥1 lを入れ, 30日後3200 luxで毎日18時間光をあて, 1.9 l/分の空気で水を撹拌させた。測定は乾燥重量, アセトン抽出液の665, 645, 630, 510, 480 nmにおける吸光度から得られるクロロフィルa, b, c, 2種のカロチノイドの定量および1000 ml中の藻類の同定と計数の3種の方法により行なわれた。また実験に欠けていた種の移入効果を考慮するため, 2週間ごとに新しい湖水が加えられた。多種の藻類を用いた増殖試験の評価法としてShannonの多様性指数が用いられた。

$$H = -\sum P_i \log P_i$$

H: Shannonの多様性指数

P_i : N_i/N

N_i : i番目の属の藻類細胞数

N: 藻類全体の細胞数

湖水に生下水, 2次処理水を添加した結果を図-2-7に示す。図-2-7では2次処理水のHが低く, 藻類の種の変化への影響が大きいことが認められる。またShannonの多様性指数により薬剤の富栄養化への影響に対する検討などが行なわれた。⁴⁵⁾ この評価法は統計熱力学におけるエントロピーとアナロジーの概念であって, Hが0に近づくほどその系は不安定であり富栄養化が進行していることを示している。

現実の水域では単一の藻類のみが生存するわけではなく, 一つの生態系の一員として生存している。したがって他の生物の影響を大きく受けるであろう。藻類と細菌との栄養塩への競争が, *Scenedesmus* sp. と *Pseudomonas* sp. とを用いて実験された。トリス緩衝無機塩地にリン酸塩とグルコースを添加したものが培地として用いられ, $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 4500 lux (13 hour/day), 120 r.p.m.の条件で培養され, 細胞計数にはコールターカウンター, Petroff-Hausserの計数盤が使用された。藻類と細菌との混合培養においては, 細菌はほとんど影響を受けず, 藻類の増殖は細菌の存在により著しく制限された。細菌を純粋培養したる液に藻類を接種しても藻類の増殖は全く制限を受けなかったことから, 混合培養における藻類増殖の制限はリン濃度によるものと考えられた。また, 藻類は体内の余剰リンにより培地中にリンが存在しなくても増殖することが可能であることが明らかとなった。⁵¹⁾

Microcosmの例では図-2-8に示す底泥, 水, 微生物を含めた系における栄養塩やガスの移動についての研究などがあるが,⁵²⁾ より現実に近い条件下において実験する必要がある場合, 実験地において実験が行なわれ, 現実との対応などについて検討される。

2-3 連続培養

2-1, 2-2において考察を行なった試験法はすべてバッチ培養である。バッチ培養では時間の経過に伴い藻類濃度, 栄養塩濃度ともに変化してゆくため動力学的な解析には適していない, また栄養塩の枯乏を生じるため低栄養塩濃度の試料の培養には適していない。これに対し連続培養においては定常的な状態に保つことが可能なため, 動力学的な解析

や現実の水質の濃度に近い状態での実験に適している。さらに連続培養は発酵などの微生物過程の工業化には欠くことのできない技術であり、図-2-9に連続発酵の概念図を、表-2-11に連続発酵の分類について示す。⁵³⁾

藻類の連続培養においては濁度(藻類濃度)を一定に保つタービドスタット(turbidostat)⁵⁴⁾と流入栄養塩量を一定に保つケモスタット(chemostat)とに分類する場合もある。

(1) ケモスタット装置

ケモスタットは元来細菌学の分野で用いられたもので、⁵⁵⁾ 1950年代に小容量のものから大容量のものまでさまざまなものが考案され、その後改良されていった。そのうち小容量の実験装置の例を図-2-10、⁵⁶⁾ 図-2-11⁵⁷⁾に示す。図-2-10においては、培養容器を直接比色計にかけ微生物濃度が測定できるよう工夫されている。図-2-11においては1ℓのエルレンマイヤーフラスコを貯留容器とした非常に簡易な装置を示した。1960年代には非常に精巧なケモスタット装置のユニットが完成され、主に細菌学の分野において用いられてきた。^{58) 59)} その1例を図-2-12に示す。⁶⁰⁾ 同様にタービドスタット装置のユニットを図-2-13に示す。⁶¹⁾

ケモスタットに関する研究では、*Chlorella* を培養藻類とし光制限的な状態やCO₂制限的な状態における増殖に関する研究や希釈率と藻類濃度に関する研究など基礎的なもののほか、^{(62) (63) (64)} 排水を含む海水における数種の藻類の増殖に関する研究⁽⁶⁵⁾ など応用的なもの、さらにはスライドグラスに付着する*Stigeoclonium* によるバイオアッセイなど⁽⁶⁶⁾ 広い範囲のものがあげられる。

藻類に関しては細菌と異なり増殖には光を必要とする点に着目し、ケモスタットの理論により、野外の温泉などにおけるある種の藻類の濃度が定常に保たれている系において光をさえぎり増殖を停止させた後、流出してくる細胞数を計数することにより藻類の世代時間なども求めることも可能である。⁽⁶⁷⁾

(2) 理論

連続培養の理論的考察はMonod,⁽⁶⁸⁾ Novick,⁽⁶⁹⁾ Herbert⁽⁷⁰⁾ によってなされ、現在もこ

これらの基礎理論は広く採用されている。⁷¹⁾

菌類の増殖がその濃度に比例するものとするとき、

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2-1)$$

X : 菌類濃度

μ : 比増殖速度

ここにおいて、

$$\mu = f(S)$$

S : 基質濃度

であり、 μ と S の関係をMonod式に準じ次のように表わすことができる。

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad (2-2)$$

μ_m : 基質が飽和濃度における比増殖速度

K_s : 飽和定数 ($\mu = \mu_m/2$ を与える基質濃度)

連続培養において菌類濃度の変化速度は、

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DX \quad (2-3)$$

D : 希釈率

ただし,

$$D = \frac{f}{V}, \quad \theta = \frac{1}{D}$$

f : 流速

V : 培地容量

θ : 滞留時間

したがって, $\mu = D$ ならば $dX/dt = 0$ となり定常状態となる。 $\mu > D$ ならば菌体濃度は増加し, $\mu < D$ ならば菌体濃度は減少することがわかる。

(2-2)式を(2-3)式に代入すると

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) X - DX \quad (2-4)$$

増殖速度と基質消費速度との比率が一定とすると

$$\frac{dX}{dt} = -Y \frac{dS}{dt} \quad (2-5)$$

Y : 収量係数

基質に関する収支式は

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - DS - \frac{\mu X}{Y} \quad (2-6)$$

S_0 : 流入基質濃度

(2-6)式に(2-2)式を代入すると

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - DS - \frac{\mu_m X}{Y} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (2-7)$$

(2-4)式および(2-7)式より, S_0, D が一定で D が臨界値を越えなければ, $dX/dt = dS/dt = 0$ なる定常値 \tilde{X}, \tilde{S} が存在する。

$$\tilde{S} = K_s \left(\frac{D}{\mu_m - D} \right) \quad (2-8)$$

$$\begin{aligned} \tilde{X} &= Y(S_0 - \tilde{S}) \\ &= Y \left[S_0 - K_s \left(\frac{D}{\mu_m - D} \right) \right] \end{aligned} \quad (2-9)$$

$\tilde{S}, \tilde{X}, D\tilde{X}$ と D との関係を図-2-14に示す。⁷¹⁾

ケモスタットにおいては培地の流入量を調整し, $dX/dt = 0$ なる流入量に設定し, $D = \mu$ により比増殖速度を求めることが可能であるが, 実際には基質濃度を一定に保つことは実験操作上非常に困難である。したがって, 本実験においては増殖速度を上まわる希釈率においても増殖速度は不変であると考え, 洗い出し速度より増殖速度を計算より求めた。一般には μ は基質濃度の関数 $\mu = f(S)$ であり, 時間の関数 $\mu = f(t)$ であるが, (2-3)式において $D > \mu$ においても μ は一定とし, 時間 t_0 から t まで積分すると,

$$\mu - D = \frac{1}{t - t_0} \ln \left(\frac{X}{X_0} \right) \quad (2-10)$$

ここで $A = -\frac{1}{t - t_0} \ln \left(\frac{X}{X_0} \right)$ とすると,

$$\mu = D - A \quad (2-11)$$

A: “洗い出し”速度 (washout rate)

これらの関係を模式的に図-2-15に示す。

平均世代時間と比増殖速度との関係は次のごとくであり、

$$G = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (2-12)$$

G: 平均世代時間

また、一般によく用いられる常用対数により表わした比増殖速度 k_g と μ との関係は次のごとくである。

$$k_g = \mu \log e \quad (2-13)$$

k_g : 常用対数による比増殖速度

第3節 研究目的

富栄養化現象の把握、予測においてAGPの測定が理化学試験と同様にあるいはそれ以上に重要であることはこれまでに述べてきた。しかし、AGP同様に生物学的な水質指標であるBODが水域の汚濁指標として広範に用いられているのと比べると、これまでのところAGPの測定は広範に行なわれる傾向にあるとはいえない。この最も大きな原因は、AGPの測定には生物学特有の実験手法や器具を必要とする点にあるものと考えられる。

現在最も一般に行なわれている藻類増殖試験法は、第2節の文献的考察においても記したように100 ml以上の容量のフラスコを培養容器とし、藻類量の測定には乾燥重量を用いる方法である。つまり、藻類の乾燥重量を必要な精度内で測定するには培養液容量として少なくとも数10 mlを必要とし、培養容器の容量としてもほぼ100 mlを要するわけである。ところが、藻類など生物を用いた試験法においては理化学試験に比べ誤差を生じやすいため、1試料を同一条件の3個のフラスコで培養することが一般的である。したがって試料数の3倍のフラスコを振とう培養するための装置や、このための専用の恒温室が必要となってくる。また、藻類の乾燥重量を測定する場合、培養期間中に乾燥重量を測定するため培地の一部を引き抜くと培養状況が変化し、また細菌による汚染の危険もあるため、一般には最終的な藻類量しか把握できない欠点がある。

そこで、本章においては藻類量として吸光度による藻類濃度の測定を採用し、かつ培養容器として試験管を用い、培養試験管のまま光電比色計による藻類濃度の測定を行なうこととした。これにより全く細菌の汚染のおそれなく培養期間中の藻類量の変化を把握することができる。また測定に要する面積も大巾に縮少することができ、培養温度の制御においても恒温水槽などの比較的簡易な装置を利用することが可能である。乾燥重量、吸光度以外の藻類量の測定法として、藻類細胞の計数、クロロフィル量およびCODの測定などがあげられるが、これらの測定法においても専門的技法や一定量以上の培養液容量が必要であり、また培養期間中の藻類量の変化を把握することは難しい。

試験管を培養容器として用いる場合、試験管の口は綿栓によって栓をするのが普通であるが、空気の来通は可能で細菌の混入は防ぎかつ操作の途中で形がくずれない綿栓を作るには十分な熟練が必要であり、綿栓の良し悪しで培養の良否が左右される場合が多い。そ

ここで本章においては、綿栓を用いずプラスチック製のスクリューキャップを用いることとした。スクリューキャップの使用により接種などの無菌操作が非常に容易になる。ただしこの場合、試験管内への空気の流通の有無が問題となるため、スクリューキャップの気密性に関する検討を行なった。

さらに、低栄養塩レベルの試水、リン酸を添加した試水、高栄養塩レベルの試水を対象としてこの試験管による藻類培養試験を行ない、この試験法の適用範囲、試水の評価、試験方法などについて検討を行なった。

バッチ培養においては藻類量および栄養塩量が常に変化しているため理論的な解析が困難であり、また低栄養塩レベルの試水においては早期に栄養塩が枯渇するなどの問題点があるため、簡易な連続培養装置による藻類増殖速度の測定を行ないこの連続培養装置の実用性についても検討を行なった。

さらに、藻類増殖理論や増殖モデルによる解析的検討を行なった。

以下に実験項目をあげる。

バッチ培養

- [1] キャップの気密性
- [2] 低栄養塩レベルの試水
- [3] リン酸を添加した試水
- [4] 高栄養塩レベルの試水

連続培養

- [1] 連続培養による増殖速度

第4節 藻類増殖試験法に関する研究

4-1 パッチ培養法

実験項目〔1〕～〔4〕に関し研究を行なった。まず各実験項目に共通した全般的な実験方法およびその実験方法を採用した理由などについて述べ、次に各実験項目の実験方法および実験結果と考察について述べる。

4-1-1 全般的な実験方法

(1) 藻類

培養実験に用いる藻類を決定するために、予備実験において緑藻類として *Pediastrum boryanum*, *Selenastrum minutum*, *Scenedesmus obliquus*, *Closterium moniliferum*, 藍藻類として *Oscillatoria limnetica*, *Anabaena cylindrica*, *Anabaena variabilis*, *Phormidium* sp., 珪藻として *Nitzschia palea* の培養を行ない、観察を続けた。そのうちから培養のしやすいもの、形態的変化の少ないものとして、*Anabaena variabilis*, *Closterium moniliferum*, *Selenastrum minutum* を選び、実験に用いた。

1) *Anabaena* 属は、らん藻植物門 CYANOPHYTA, らん藻綱 Cyanophyceae ユシモ目 Oscillatoriales, ネンジュモ(ジズモ)科 *Anabaena* Bory に属するもので、藻糸は、真直ぐなもの、わん曲するもの、螺旋状に巻くものなどがあり、単糸、または塊状の形で浮遊、あるいは層状をなす。細胞は球形、または樽形をしている。大繁殖して、水の華を作ることがある。一般にらん藻類は、分布が広く、普通の湖沼、河川、水溜はもちろん、85℃の温泉や、溶存酸素の少ない汚水などの特殊な水域にも生育し、*Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* は、特に大繁殖して、水の華を作ることがある。²²⁾ 本実験に用いたのは、*Anabaena variabilis* であり、実験中の顕微鏡観察においては、栄養状態の良い状態では、単独に分離しているが、栄養状態

が悪くなるなど環境条件の変化により ジェズ状につながり、非常に環境条件が悪くなり、藻類令が老化すると、フロック状にかたまることが観察された。本実験に用いた *Anabaena variabilis* は、京都大学工学部衛生工学科放射線衛生工学研究室より分株したものである。

2) *Closterium* は、緑藻類 CHLOROPHYTA, 緑藻綱 Chlorophyceae ホシミドロ目 Zygnematales, ツヅミモ科 Desmidiaceae, ミカツキモ属 *Closterium* に属するものであって、細胞は三日月形、または弓形にわん曲し、細胞の両端には空胞があって、ここに石膏の粒子を有している。本実験に用いた種は *Closterium moniliferum* EHRENBERG である。これは、葉緑体に 6 本の縦溝があり、ピレノイドが一列に並び、細胞膜は平滑で無色に近く、各地の湖沼に分布する最も普通の種である。アルカリ性の富栄養水域に出現する事が多い。⁷²⁾ 本実験に用いた *Closterium moniliferum* は、京都大学理学部付属大津臨湖実験所から分株したものである。

3) *Selenastrum* 属は、緑藻植物門 CHLOROPHYTA, 緑藻綱 Chlorophyceae, クロコッカルス目 Chlorococcales, オエキステス科 Oöcystaceae に属する。Oöcystaceae は、非常に多くの属を含み、*Chlorella* BEIJERINK などもこの属に含まれる。*Selenastrum* REINSCH は、普通 ムレミカツキモ属と呼ばれ、細胞は、三日月形または、鎌形をしており、両端が鋭く尖っている。通常 4, 8, 16 個の細胞が集まり、互いに背面を接した群体を作り、これがさらに集まって、100 個以上の細胞で群体を作るが、これらを包む寒天被膜を持たないのが特徴である。葉緑体は、1 個で背面に沿った側立性の板状である。⁷²⁾

Selenastrum westii, *Selenastrum bibraianum* などは、日本の各地の池に出現する。本実験においては、*Selenastrum minutum* (NAEGELI COLLINS) を用いたが、この種は大きな群体を作らず、単独、あるいは少数個体が集合する。実験中の顕微鏡観察においても、単独のものがほとんどであった。*Selenastrum minutum* は、大和郡山の金魚池などで冬季よく出現する。実験に用いたものは、東京大学応用微生物研究所より分株したものである。本実験で用いた *Anabaena variabilis* を図-2-16 に、*Closterium moniliferum* を図 2-17 に、*Selen-*

*astrum minutum*を図-2-18に示す。

(2) 培地

藻類の培地の種類は非常に多いが、それらのうち、一般藻類用培地から Chulio 培地 Knop の改変培地、緑藻類用培地から Bristol 改変培地、らん藻用培地から Kratz-Myers の培地、C 培地など。そのほか数種の培地を用いて各藻類の培養を試験的に行ない、最もその藻類に適すると考えられる培地を選びだした。その結果、*Selenastrum* には Detmer 改変培地、*Anabaena* には Kratz-Myers 培地、*Closterium* には C 培地が最も適することが明らかとなった。それらの組成を表-2-12、表-2-13、表-2-14 に示す。

各培地は、オートクレーブ処理の際に、リン酸による沈澱を避けるため、リン酸塩を除いた培地と、リン酸塩溶液を別々にオートクレーブ処理を行ない、冷却後、リン酸塩溶液を添加した。

(3) 試水の前処理

実験の試料となる自然水、下水処理などのサンプルは、121℃、15分間のオートクレーブ処理を行なうか、孔径0.45 μ mのミリポア・フィルターでろ過処理した。手法的にはろ過処理を完全に無菌的に行なうには高度の技術を要し、簡易法としてはオートクレーブ処理の方が適していると考えられる。

(4) 接種

200ml エrlenmeyer フラスコにリン酸を除いた培地150mlを入れ、綿栓をしたのち、オートクレーブ処理を行ない、冷却後、オートクレーブ処理したリン酸溶液を加えた。この培地に、藻類を含んでいる培地数ml、または、直接寒天培地からの藻類を添加し、あらかじめ滅菌しておいたテフロン加工したマグネチックを入れ、蛍光灯のもとでスターラーにより攪拌培養した。5〜7日後に、藻類の繁殖により培地の色が緑色となってくる。約1週間後のこの培地を3000r.p.m. 10分間、遠心分離し、上澄液をすて、沈澱した細胞を蒸留水に懸濁させ、静置する。静置1日後、細胞計数し、必要な接種濃度に希釈して、接種した。これらの操作はすべて無菌的に行なった。なお、藻類の細胞計数は顕微鏡により、網目接眼マイクロメーターを用いて、一定視野面積内の細胞数を計数

する方法で行なった。

(5) 培養方法

本実験においては、藻類試験法が広く一般に行なわれうる可能性を考え、最も小容量のものとして、耐熱性のスクリー・キャップ[®]のついた径16.5mm、高さ150mmの試験管を用いた。試料容量は試験管のまま吸光度の測定を行なうことのできる最低限の培養液容量および吸光度の測定時における試験管振とう器の激しい振拌によっても細菌の汚染の可能性の小さい最大限の培養液容量を考慮し10mlとした。これを水平8の字振とう、上下振とう、または静置により培養も行なった。振とう装置を図-2-19、図-2-20に示す。

(6) 培養条件

培養温度は恒温室において $21 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。光源には昼光色蛍光灯を用いた。照度は $1000\text{ lux} \sim 19000\text{ lux}$ とした。

(7) 藻類量の測定

本実験においては、最も容易で一般性のある光電比色計の吸光度により測定した。その波長に関しては、PAAPでは、600nmを採用しており、本実験においては、それぞれの藻類の特性を考慮し、それぞれの藻類の400nm~700nmにおける波長特性を測定し、最も光の吸収の低い波長を決定し、その波長により測定した。その波長は、*Selenastrum*では、600nmまたは640nm、*Anabaena*では580nm、*Closterium*では、600nmであった。全般的に特にするどい吸収波長は認められず、濁度に近い測定を行なったと考えられる。

各試料は同一条件の試験管3本により培養を行い、3つの測定値の平均値をデータとした。測定した吸光度 Y とその初期値 Y_0 の差を増殖量 X とした。

また、培養期間中の増殖量 X の最大値を最大増殖量 X_m で表わすこととした。ただし、*Anabaena*においては、 $0.600 < Y$ においては細胞数濃度と吸光度の間に比例関係は成立しないので、検量線を作り、

$$0.600 < Y \leq 1.000 \text{ においては } Y' = 1.27Y - 0.160$$

$$1.000 < Y \text{ においては } Y' = 1.89Y - 0.788$$

により補正を行ない、

$$X = Y' - Y_0$$

により増殖量 X を求めた。同様に *Closterium* においても

$$0.500 < Y \leq 1.000 \text{ においては } Y' = 1.31Y - 0.153$$

$$1.000 < Y \text{ においては } Y' = 1.62Y - 0.469$$

により補正を行なった。*Selenastrum* に関しては、本研究で行なった測定範囲においては細胞数濃度と吸光度の間には比例関係が成立した。各藻類において、増殖量 X と細胞数濃度との関係は、

$$\text{Anabaena において} \quad 7.65 \times 10^5 X = C$$

$$\text{Closterium において} \quad 3.12 \times 10^5 X = C$$

$$\text{Selenastrum において} \quad 1.74 \times 10^5 X = C$$

X : 増殖量 (吸光度)

C : 細胞数濃度 (個/ml)

予備実験において、藻類の試験管への吸着は、測定に大きな影響をおよぼし、増殖曲線に遅滞をおよぼし、測定誤差の原因となることが判明した。とくに、*Anabaena* の場合、吸着の影響が大きくあらわれた。そこで、光電比色計により吸光度を測定する際に、迅速試験管振とう器で試料を完全に攪拌した後、測定を行なった。この攪拌の際、試料と試験管内の空気とは、激しく混合され、 CO_2 が供給されたと考えられる。また、予備実験に

において、藻類の代謝物による各成長への影響がないことを確認している。吸光度の測定には島津製作所製目折格子型光電比色計SPECTRONIC20を用いた。

なお、添加溶液のリン酸濃度の測定は、下水試験方法によるモリブデン酸アンモニウム法により、⁷³⁾全リン酸濃度の測定は、Standard Methods⁷⁴⁾による硫酸、硝酸分解法によった。

このような種々の実験方法により本章の実験を行なったが、最終的には次のような実験方法を標準的な方法として採用し、本章の一部および第3章の実験方法として使用した。

(1) 藻類種	<i>Selenastrum minutum</i>
(2) 培養液	Detmer 改変培地
(3) 試水の前処理	オートクレーブ処理
(4) 接種個数	1000個/ml
(5) 培養方法	スクリュウキャップ付き試験管による静置培養
(6) 試料容量	10 ml
(7) 培養条件	温度 $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 照度 約 3000 lux
(8) 藻類量の測定	吸光度

4-1-2 各研究項目における実験方法

(1) キャップの気密性

藻類の培養容器には試験管を用いたが、培養期間中における細菌による汚染などを防ぐための試験管の栓には、耐熱性のスクリュウキャップを用いた。このスクリュウキャップの問題点として、オートクレーブ処理による藻類への阻害物質の溶出や空気中の二酸化炭素の供給の程度などがあげられる。オートクレーブ処理による阻害物質の溶出の可能性については予備実験において全く問題がないことを確認した。

そこでスクリュウキャップを用いた場合の気密性についての検討を行なった。実験は、

スクリーキャップの気密性の直接的な検討ではなく、いく種類かのキャップによる藻類増殖試験を行ない、その増殖量より検討を行なった。藻類には *Selenastrum minutum* を用い、培養日数は14日間、静置培養とした。なおスクリーキャップの材質はテフロンとシリコンで硬質である。培地には Detmer 改変培地を用い、前処理として、オートクレーブ処理を行なった。使用した試験管のキャップの種類を次に示す。

- 1) スクリー・キャップ
- 2) 2重のアルミホイル
- 3) サンプル管
- 4) スクリー・キャップ (ビニールテープにより密封)
- 5) パラフィルム
- 6) スクリー・キャップ (パッキング付き)

これらのうち 1) は普通の実験条件のままであり、2) はアルミホイルを2重に被せたもの、3) は適当な大きさのサンプル管を上下を逆に被せたもの、4) はスクリー・キャップをビニールテープで何重にもまき密閉したもの、5) は、実験用のパラフィルムにより被い密閉したもの、6) は、スクリー・キャップの内部にシリコンおよびテフロン性の軟質パッキングを充填したものである。2), 3) は気体の流通があり、4), 5), 6) は密閉されている。

〔2〕 低栄養塩レベルの試水

琵琶湖の北湖、南湖、疏水および鴨川水系の自然水を低栄養塩レベルの試水として用い、藻類増殖試験を行ない、その適用性について検討を行なった。さらに南湖湖水(疏水入口)を用いて窒素、ビタミンB₁₂、炭酸塩、酵母エキスを添加し増殖試験を行ない、その効果について検討した。

湖水、河川水はすべてオートクレーブ処理し、添加溶液は、ミリポアフィルターろ過し添加した。採水地点を次に示す。

琵琶湖南湖：疏水入口，草津市矢橋

琵琶湖北湖：今津（北面），長浜（北東）

疏水：山科

鴨川：大原，高野川賀茂川合流点，九条，伏見

添加物質は，ビタミンB₁₂，NH₄Cl，KNO₃，Ca(HCO₃)₂，酵母エキスである。室素添加として，琵琶湖南湖水（疏水入口）に

NH₄Cl； 10ppm， 1ppm， 0.1ppm (as N)

KNO₃； 10ppm， 1ppm， 0.1ppm (as N)

となるよう添加した。ビタミンB₁₂は南湖水（疏水入口）に 1μg/l， 0.1μg/l， 0.01μg/l になるように添加した。炭酸は炭素源の影響をみるために，南湖水（疏水入口）に実験開始後，5日目に Ca(HCO₃)₂ 30ppm を添加した。酵母エキスは，粉末を蒸留水に溶かし，50ppm， 10ppm となるように，琵琶湖南湖水に添加した。酵母エキスはビタミンの混合物として知られているが，とくにビタミンB₁，ビタミンB₂を多量に含む。また，リンも酵母エキス50ppm中に，1.23ppm存在し，総合的な栄養剤として用いた。

以上のサンプルを，10ml，3本ずつ作り，*Selenastrum* を 10³ cell/ml になるよう植種し，21±2℃で静置培養とした。照度は約3000 lux，測定は隔日に行ない，安定するまでの約20日間とした。

〔3〕 リン酸を添加した試水

琵琶湖南湖水に，リン酸溶液，リン酸洗剤溶液 および無リン酸洗剤溶液を添加し，藻類の培養実験を行ない，それらの藻類増殖におよぼす影響について検討を加え，試験法の適用性について検討した。この実験により，富栄養化におけるリンの役割，家庭下水中で富栄養化に大きな比重を占めると考えられている洗剤の役割，および無リン酸洗剤を使用した場合の効果などを明らかにしようとするものである。

琵琶湖南湖水としては，京都大学工学部水質汚濁制御シミュレーション実験室に送られて

くるものを用いた。洗剤は、恒温槽（90～100℃）中で1時間、デシケーター中で1昼夜乾燥したものを用い、洗剤濃度10ppmとして添加した。各試料は、すべてオートクレーブ処理を行なった。対照には、無添加湖水10mlを用いた。

培養藻類として（1）*Anabaena*を用いた実験と（2）*Selenastrum*を用いた実験の2種の実験を行なった。2種の実験は、添加濃度などにおいて少し違いがある。

（1）*Anabaena* によるリン酸および2種の洗剤の添加実験

湖水にリン酸溶液を0.05ml, 0.1ml, 0.5ml, 1.0ml添加し、リン酸洗剤溶液、無リン酸洗剤溶液をそれぞれ0.05ml, 0.1ml, 0.5ml添加し、全量を10mlとした。したがって添加率は、0.5%, 1%, 5% および10%である。各試料に、*Anabaena variabilis*を、1000個/mlとなるように接種し、21±2℃、平均照度1300 lux、65 r.p.m. 水平8の字回転により培養した。培養期間は、8日間で、測定は毎日行なった。

（2）*Selenastrum* によるリン酸および2種の洗剤の添加実験

琵琶湖湖水は、同じ実験室に送られてくる試水を用いたが、採水時が異なっている。そのリン酸濃度は、0.04ppmであった。添加状況は、リン酸溶液については、10, 3, 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01ppm溶液各1mlを湖水9mlに加え、2種の洗剤溶液については、洗剤濃度100, 10, 1, 0.1ppmの溶液1mlを湖水9mlに添加した。したがって、それらの濃度は、添加された結果、1/10の濃度となる。これらの試料は、すべてオートクレーブ処理後、使用した。

また、培養条件も、実験（1）と同一であるが、照度が1000 luxである点が異なっている。洗剤に関する2つの実験の培養条件を表-2-15にまとめておく。

〔4〕 高栄養塩レベルの試水

鴨川の上流、高野川の馬橋における河川水に、鳥羽下水処理場から採水した生下水、1次処理水、2次処理水、および実験的に調整して得た3次処理水を高栄養塩レベルの試料として添加し、藻類の培養実験を行ない、試験法の適用の可能性について検討し、また本

加液の藻類増殖によぼす影響について検討した。本実験により、1) 簡易な藻類増殖試験の適用範囲、2) 都市下水の富栄養化に果たす役割、3) 下水処理場の富栄養化という観点からの評価、4) 栄養塩特にリンと富栄養化との関連、5) 3次処理の効果などに対する考察を試みた。同時に、培養に用いる藻類の種類の評価、オートクレーブ処理とミリポアフィルターろ過処理による栄養塩への影響などについても検討した。

実験は接種藻類として (1) *Anabaena* を用いた実験、(2) *Closterium* を用いた実験、(3) *Selenastrum* を用いた実験の3種類である。

(1) *Anabaena* による下水処理水添加実験

2次処理水を、粉末活性炭の10 cmのカラム中を流下させ、これを一応3次処理水とみなした。生下水、1次処理水、2次処理水、3次処理水をオートクレーブ処理した後、ガラスフィルターによりろ過を行ない、同じくオートクレーブ処理した河川水に、それぞれ0.05 ml, 0.2 ml, 1 ml, 5 ml 添加し、10 ml とした。したがって添加率は、0.5%, 2%, 10%, 50% となる。生下水と2次処理水については、 $0.45\mu\text{m}$ のミリポアフィルターによるろ過により処理し、オートクレーブの場合と同様の割合でオートクレーブ処理した河川水に添加した。これらの対照として、無添加河川水10 ml を用いた。これらはすべて同一条件のものを3本ずつ準備した。これらの試料に *Anabaena variabilis* を、オートクレーブ処理した試料の場合には、 1.5×10^5 個/ml となるよう、ろ過処理した試料の場合には、 2.5×10^5 個/ml となるように接種した。これらの試料を $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 、平均照度 1900 lux, 200 r.p.m. の上下振とうにより培養を行なった。培養日数は、0.5%, 2%, 10% 添加試料においては16日間、50% 添加試料においては22日間とした。なお測定は2日間隔で行なった。

(2) *Closterium* による下水処理水添加実験

添加液、添加率などの実験条件は、(1) *Anabaena* による下水添加実験と全く同一である。異っている点は、振とう法は 65 r.p.m. 水平8の字回転であること、接種濃度を、接種した時点で 2.0×10^6 個/ml となるようにしたこと、10% 添加試料の培養日数を22日間としたことである。

(3) *Selenastrum* による下水処理水添加実験

鳥羽下水処理場から、生下水、2次処理水を採水した。2次処理水に、アラム ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$) を 360 ppm となるように加え、pH を水酸化ナトリウム溶液で 7.0 に調整し、30秒間激しく攪拌した後、30 r.p.m. で 30分間攪拌し、ろ過したものを3次処理水とした。これらの生下水、2次処理水、3次処理水を、オートクレーブ処理した後 0.45 μm のミリポアフィルターでろ過したものと、0.45 μm のミリポアフィルターでろ過処理したものの計6種類を、オートクレーブ処理した高野川馬橋付近の河川水に添加した。それぞれ 0.05 ml, 0.1 ml, 0.5 ml 添加し、10 ml となるようにしたので、添加率は 0.5%, 1%, 5% である。対照としては、無添加河川水 10 ml を用いた。これらの試料は同一条件のものを3本ずつ用意し、*Selenastrum minutum* を 1.0×10^3 個/ml となるように接種した。培養条件は、 $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 、平均照度 1300 lux, 200 r.p.m. 上下振とうである。培養期間は、18日間で、毎日測定を行なった。

これらの高培養レベルの試水に関する3つの実験の条件を表-2-16 にまとめておく。

4-1-3 実験結果および考察

各実験項目における実験結果を次に述べ考察を行なう。一般に藻類増殖の評価においては、最大増殖量を用いる場合と比増殖速度を用いる場合とがあるが、本実験結果においては比増殖速度の値のばらつきが大きくなったため、主に最大増殖量により評価を行なった。

〔1〕 キャップの気密性

14 日目の吸光度により測定した藻類増殖量を表-2-17に示す。1つのデータは3本の試験管の藻類増殖量の平均値であり、わずかに試料から標準偏差を算出することには問題もあるが、ばらつきの目安として表-2-17中に示した。表-2-17において、ほぼ完全に密閉されていると考えられる4), 5), 6)の場合と、密閉されていない2), 3)の場合とでは明らかに藻類増殖量に差が認められ、その値は後者が前者の6〜7倍となっている。培地の攪拌はすべて十分に行なわれており、これらの2つのグループの差はキャップの種類の違いによる二酸化炭素の供給の差によるものと考えられる。普通の培養条件である1) スクリュー・キャップのみの場合も2), 3)と同レベルの値を示しており、試験管内は密閉状態にはないものと推定できる。したがって、このようなスクリュー・キャップの使用によっても二酸化炭素の供給は十分であって培養方法として問題はないと結論できる。

〔2〕 低栄養塩レベルの試水

琵琶湖、鴨川の試水の水質を表-2-18に示す。表-2-18において、pHは九条において高くなっているが、これは工場排水の影響と思われる。NH₄濃度が低いのは他の水質項目より測定が数日おくれたためであろう。また、琵琶湖北湖の栄養塩濃度が高いのは、湖岸から数mの地点での採水のため湖岸からの影響を受けたものと考えられる。

藻類増殖曲線を図-2-21, 図-2-22に示す。また藻類の最大増殖量を表-2-19に示す。表-2-19によると、琵琶湖においては採水方法の問題点もあり、最大増殖量 X_m は、測定誤差を考慮すれば有意の差は認められないが、疏水においては少し大きな値を示している。鴨川水系においてはむしろ下流の九条 伏見において最大増殖量

X_m が小さく、工場排水などに由来する阻害物質の影響が考えられる。

各添加培養における最大増殖量 X_m は、酵母エキスを添加した場合以外は、添加の有無、添加量による有意の差がほとんど認められない。酵母エキスにおいては、50 ppm 添加において、急激な増殖を示し、総合的な栄養剤としての生長促進効果が認められる。

ここに提案した簡易な藻類増殖試験法は全般的に自然水のような低栄養塩レベルの試水に対しては、栄養塩レベルを反映した藻類の増殖を的確には示さず、有効ではないものと考えられる。

(3) リン酸を添加した試水

(1) *Anabaena* による、リン酸および2種の洗剤の添加実験

湖水および添加したリン酸溶液、リン酸洗剤溶液、無リン酸洗剤溶液中のリン酸、全リン酸濃度を表-2-20に示す。表-2-20によれば、リン酸洗剤濃度10 ppm中のリン酸濃度は、約2 ppmであるから、リン酸洗剤中リン酸の含有率は、約20%と考えられる。

各試料の最大増殖量 X_m およびばらつきの程度の目安として最大増殖日における3本の試料の増殖量の標準偏差 σ を表-2-21に示す。表-2-21において、リン酸溶液添加の場合には添加率の増加により X_m も増加する傾向が認められるが、洗剤溶液添加の場合は添加率にかかわらず X_m はほぼ一定であり、有意な差は認められない。

(2) *Selenastrum* によるリン酸および2種の洗剤の添加実験

各試料の最大増殖量 X_m および最大増殖日における3本の試料の増殖量の標準偏差 σ を表-2-22に示す。表-2-22において、リン酸溶液添加においては10 ppmの場合を除けば、ほとんど差が認められない。リン酸洗剤溶液添加においてはやや添加率にしたがって増加がみられる程度であるが、無リン酸洗剤溶液添加においては100 ppm添加において大きな増殖が認められる。

全般的に、自然水に少量のリン酸、洗剤を添加した程度の栄養塩レベルの試水においても簡易化法は適用がやや困難と考えられるが、傾向としては、リン酸を含む洗剤とリン酸を含まない洗剤との影響には大きな差は認められず、また藻類の種類によりリン酸濃度に

対する反応が異なっているものと推定される。

〔4〕 高栄養塩レベルの試水

(1) *Anabaena* による下水処理水添加実験

河川水、生下水、1次処理水、2次処理水、3次処理水のリン酸濃度を表-2-23に示す。一般に、下水処理場におけるリン除去率は30%とまじりとされているが、²⁵⁾表-2-23によればオートクレーブ処理においては約80%、ろ過処理においては約90%の高い除去率となっている。3次処理水のリン酸濃度が2次処理水より高くなっているのは、粉末活性炭から溶出したのではないかと考えられる。生下水において、オートクレーブ処理したもののリン酸濃度は、ろ過処理したものの約6割に減少しているが、これは、オートクレーブ処理中に沈澱し、ろ過により除去されたものと考えられる。2次処理水においては、オートクレーブ処理・ろ過処理によるリン酸濃度に変化はなかった。

*Anabaena*の増殖曲線の1例を図-2-23に示す。図-2-23において増殖曲線はS字に近い形を示している。

各試料の最大増殖日、最大増殖量 X_m 、さらに最大増殖日における同一培養条件の3つの増殖量の標準偏差および変動係数 C を参考までに表-2-24に示す。表-2-24において変動係数は、同一試料の3つの試験管のうちほとんど増殖を示さなかった1つの試験管を除外したため非常に小さな値となっている以外はほぼ10~30%の値となっている。

最大増殖量 X_m と最大増殖日の関係を図-2-24に示す。図-2-24では、最大増殖量が0.400以上である50%添加試料は、22日に最大となっているが、0.5%、2%、10%添加試料においては、16日以前に最大となっているものが半分以上ある。したがって、最大増殖量に達するには2~3週間を要すると考えられるが、実用的には、培養期間は2週間程度が適当であると考えられるため、高栄養塩レベルの試水に対してはほぼ2週間後に最大増殖量となるよう、湖水などにより適切な希釈を行なうことが望ましい。

最大増殖量 X_m と添加率との関係を図-2-25に示す。図-2-25において添加

率と X_m はほぼ直線性を示し、そのY軸上の切片は どれも対照の増殖量0.0297より大きい。つまり、2%以下の添加により、最大増殖量は添加量に対して、急激に増加すると考えられる。各添加液に関しては、ろ過した生下水、2次処理水、オートクレーブ処理した生下水、1次処理水、2次処理水、3次処理水の順に最大増殖量 X_m が大きい。オートクレーブ処理のものの最大増殖量 X_m が減少しているのは、オートクレーブ処理中における熱に対して不安定な栄養源の揮発や分解あるいは増殖抑制物質の生成などが考えられる。試料中のリン酸濃度と最大増殖量 X_m の関係を図-2-26に示す。リン酸濃度と最大増殖量 X_m の間には比例的な傾向が認められる。

(2) *Closterium* による下水処理水添加実験

Closterium の増殖曲線を図-2-27に示す。図-2-27における50%添加においてS字形の大きな増殖を示している。全般的に *Closterium* の増殖曲線は、*Anabaena* の増殖曲線よりも、よりS字形に近い形を示す。

各試料の最大増殖日、最大増殖量 X_m 、最大増殖日における同一条件の3つの試料の増殖量の標準偏差 σ 、変動係数 C を表-2-25に示す。また最大増殖量 X_m と添加率の関係を図-2-28に示す。*Closterium* の場合には、添加率0~10%の場合に急激に増殖量が増加し、10~50%における増殖量の増加は0~10%におけるほど急激ではない傾向が、実験(1) *Anabaena* の場合より一層明瞭に示されている。添加率10%~50%間に、増殖率の低下する添加率が存在すると考えられる。各添加液に関しては、3次処理水添加の方が、2次処理水添加よりも最大増殖量 X_m が大きくなっており、*Closterium* は、リン酸の影響をより強く受けるのではないかと考えられるが、各試料中のリン酸濃度と最大増殖量 X_m の関係を示した図-2-29においては、明瞭な相関関係を見いだすことはできない。

(3) *Se/enastrum* による下水処理水添加実験

河川水、生下水、2次処理水、3次処理水のリン酸濃度、およびTOC値を表-2-26に示す。表-2-26において、2次処理水中のリン酸濃度は、実験(1)、実験(2)の場合より1桁オーダーがさがっている。また、アラムによる3次処理が有効であったことを

示している。TOC値に関しては、生下水において、オートクレーブ処理したものは、ろ過処理したものの約4.3倍の値を示し、有機物の熱分解による溶解性の有機物の増加を示唆している。ろ過処理における値によると、2次処理水のTOC値は生下水のTOC値の約1/2、3次処理水のTOC値は、2次処理水のTOC値の約2/3となっている。

Selenastrum の増殖曲線の1例を図-2-30に示す。図-2-30ではやや直線的な増殖を示している。

各試料の最大増殖日、最大増殖量 X_m 、最大増殖日における同一培養条件の3つの増殖量の標準偏差 σ 、変動係数 C を表-2-27に示す。最大増殖量 X_m と添加率との関係を図-2-31に示す。図-2-31によると、生下水添加の場合に急激な増加を示しているが、2次処理水添加、3次処理水添加の場合は、添加率による変化はあまりみられない。

試料中リン酸濃度と最大増殖量 X_m の関係を図-2-32に示す。各点は、ほぼ直線性を示しており、最大増殖量 X_m は、リン酸濃度にほぼ比例関係にある。その相関係数 r は0.992、回帰直線と x 軸との交点は0.049ppm（リン酸濃度）であり、リンの濃度に変換すると0.016ppmとなり、一般的に言われている制限濃度とよく一致している。したがって、本実験においては、リン酸が制限因子であった可能性があり、そのように考えれば、2次処理水での増殖量が小さかったことの説明も可能となる。

しかしながら、こういった考察の内容を断定的な結論にまで確かさを高めるためには、さらに多種の藻類を用い、実験的にもさらに詳細なものを数多く行なう必要がある。

簡易な藻類増殖試験法は下水処理水を添加したような高栄養塩レベルの試水に対しては全般的に次のようなことが明らかとなった。

まず培養方法に関しては、藻類が最大増殖量に達するには約2週間を要し、栄養塩レベルの高い場合は約3週間を要する場合もあるがこの場合も2週間で最大増殖量の70%以上の値となることが多く、その後の増殖率も小さくなく、実用的には培養期間が短い方が望ましいことも考慮すれば、藻類の培養日数は2週間で十分となるように試料の栄養塩レベルに応じて湖水などにより適切な希釈を行なうことが必要である。また前処理としてろ過処理を行なった試料はオートクレーブ処理を行なった場合の約2倍の藻類増殖量を示した。

振とう法として上下振とう法および水平8の字振とう法を行なったが、明らかな藻類の剥離や試験管への付着が観察され、採用した振とう回数程度ではあまり培養液の振とう効果はないものと推定される。

また、高栄養塩レベルの試水による実験のうち、*Anabaena*, *Closterium* を用いた実験では比較的試水中のリン酸は過剰な状況であったと推定される結果となったが、*Selenastrum* を用いた実験では比較的リン酸濃度と藻類増殖量との関連が強い結果となった。各下水処理水による藻類増殖量に関しては、1次処理水では生下水の場合とあまりかわらず、2次処理水では生下水の場合より大きく減少し、実験室で調整した3次処理水と2次処理水との場合はその差はそれほど小さくなかった。下水処理水の添加率に関しては、10%以下の添加率において藻類増殖量は急激に増加する傾向が認められ、そのパターンは藻類の種類により異なっていた。

4-2 連続培養法

バッチ培養では栄養塩量が限定されているため、低栄養塩レベルの試料を用いた小容量のバッチ培養においては、各試料間の藻類増殖量に差が生じにくいという問題点がある。この解決法の1つとして試料を補給しながら培養する連続培養が考えられる。

細菌学などの分野においては非常に精密なケモスタット装置が用いられるが、本実験においてはエルレンマイヤーフラスコを用いた比較的簡易な実験装置を用い、この実験装置の実用性および藻類の増殖速度などについて検討を行なった。

4-2-1 実験方法

本実験に用いた実験装置を図-2-33に示す。培養容器には500mlエルレンマイヤーフラスコを用い、400mlの培養液をマグネティックスターラーにより攪拌した。マグネティックスターラーの発熱による培養液の昇温を防ぐため、培養容器は、20℃の水を循環させたアクリル容器内に設置した。培養液は5lのガラスビンからマイクロチューブポンプにより細菌汚染防止用のトラップを経て、培養容器内に滴下された。培養液は細菌濾過のためのフィルターを経た500ml/minの空気により曝気した。光源には昼光色20Wの蛍光灯3本を用い、照度は6000lux、連続照射とした。

400mlを越えた培養液は空気圧によりステンレス製細管を通じて系外へ排出され試料として採取された。採取された試料の吸光度(波長600nm)と濁度を毎日測定した。培養液を送るゴム管や容器の栓はすべてシリコン・ラバーを用い、実験装置をオートクレーブにより滅菌し、実験を開始した。

実験は培養液の供給速度を変化させrun1～run5まで行なった。供給速度は表-2-28中に希釈率として示す。培養液にはMD培地を用いた。

4-2-2 実験結果および考察

連続培養により基質流入速度を変化させたrun1～run5における藻類量の変化を吸光度および濁度により図-2-34に示す。各runにおける基質流入速度は表-2-28中に示す。図-2-34において、各測定値は多少のばらつきは認められるが比較的簡易

な連続培養装置としては、ばらつきは小さく、連続培養装置として用いることは可能だと考えられる。吸光度、濁度と培養時間との相関係数および吸光度と濁度の相関係数を表-2-29に示す。表-2-29においては、run 2, run 4 で ややばらつきが大きい。吸光度と濁度の相関はrun 1, 3, 5において0.99以上の値となっており、吸光度による測定と濁度による測定ではほとんど差異がないが、やや濁度のばらつきが小さく、精度が良くなっている。吸光度と濁度の関係を図-2-35に示す。

吸光度を対数目盛によりプロットし、傾きとして得られる $-A$ の値を求め(2-11)式より比増殖速度 μ の値を求めた。各runにおける μ の値を表-2-28に示す。表-2-28における μ の値はrun 1において 10^{-1} のオーダーであるが、その他のrunにおいては 10^{-2} のオーダーとなり、比増殖速度が非常に小さくなっている。一般の藻類における常用対数による比増殖速度 k_p を表-2-30に示す。⁷⁶⁾これらの値と比較しても本実験における増殖速度は、run 1を除けば1桁オーダーが小さくなっている。

また〔4〕高栄養塩レベルの試水の(3) *Selenastrum*の実験における最大比増殖速度 μ_m の値を表-2-31に示す。表-2-31における μ_m の平均値は0.278であり、この値と比べてもrun 1を除けば増殖速度はオーダーが1桁小さいことがわかる。これは培地中の藻類すべてが最大の増殖をするには6000 luxの照度では不足であったためとも考えられるが、run 5においては μ が負を示しており、容器壁面に藻類が付着し照度が減少したためかあるいは基質流入速度の小さい場合は代謝による増殖抑制物質の蓄積などが原因ではなかったかと考えられる。したがって本実験装置の連続培養によるAGP測定などの実用化には、培養容器の容量および形、攪拌方法、照度などに関する改良が必要であると思われる。

4-3 藻類増殖モデル

藻類を含む微生物の増殖に関して多くの研究がなされ、さまざまな理論が検討されてきた。ここでは、比増殖速度 μ に対する考察と、本実験で採用したバッチ系の培養における理論的考察とを行ない、そのうちロジスティック曲線による検討を行なう。

(1) 藻類増殖理論

藻類細胞がある大きさまで成長すると、2つまたはそれ以上に細胞分裂を行ない増殖していく。藻類のなかには、有性生殖を行なう種類も存在するが、本実験に用いた種はすべて細胞分裂により増殖する。

1 世代時間に数が2倍になるとすると、

$$X = X_0 \cdot 2^N \quad (2-14)$$

X : 時間 t における藻類濃度 = M/V

X_0 : 時間 0 における藻類濃度

N : 分裂の回数

ここで

$$\frac{t}{N} = g \quad (2-15)$$

t : 時間

g : 世代時間

(2-14) 式 および (2-15) 式より

$$X = X_0 \cdot 2^{\frac{t}{g}} \quad (2-16)$$

対数をとると

$$g = \frac{(\ln 2)t}{\ln X - \ln X_0} \quad (2-17)$$

$$\ln X = t \cdot \frac{\ln 2}{g} + \ln X_0 \quad (2-18)$$

ここで $\frac{\ln 2}{g}$ を比増殖速度 μ とおくと

$$\ln X = \mu t + \ln X_0 \quad (2-19)$$

$$X = X_0 e^{\mu t} \quad (2-20)$$

したがって

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2-21)$$

真の比増殖速度 μ' , 藻類崩壊率 p を考えると

$$\frac{dX}{dt} = (\mu' - p) X \quad (2-22)$$

となる。

(2) 比増殖速度

比増殖速度 μ は制限栄養塩濃度の関数と考えられており、生物、環境、培地により変化する。また、 μ は他の因子が過剰であれば、制限栄養塩濃度の関数と考えられる。

$$\mu = f(S) \quad (2-23)$$

S : 増殖速度制限栄養塩濃度

制限栄養塩濃度 S が低い時、 μ は S の 1 次関数であると考えられ、 S が高い時、 μ は S の 0 次の関数であると考えられる。また、 S が高濃度の時、 μ は最大比増殖速度 μ_m に近づくと考えられる。

1) Monod モデル (Michaelis-Menten 式)

Michaelis-Menten 式は酵素反応を基質の関数として表わしたもので、Monod によって微生物の増殖に対して経験的に適用し得ることが提案された。

$$\mu = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (2-24)$$

μ : 比増殖速度

μ_m : 最大比増殖速度

S : 増殖速度制限栄養塩濃度

K_s : $\mu = \mu_m/2$ となる時の栄養塩濃度

この式は、広く微生物に適用されるが、McGauhey らは、この理論を藻類増殖に適用している。⁷⁷⁾ Porcella らもまた Michaelis-Menten 式をバッチ式およびケモスタットの藻類増殖に用いている。⁷⁸⁾

2) Teissier の指数モデル

Teissier は、バクテリアにおいて、

$$\mu = \mu_m (1 - e^{-k_s S}) \quad (2-25)$$

k_s : 増殖定数

を提案した。⁷⁹⁾

3) Moser のモデル

Moser により

$$\mu = \mu_m \left(\frac{S^n}{K_s + S^n} \right) \quad (2-26)$$

が提案されたが、⁸⁰⁾これは、 $n=1$ のとき、Michaelis-Menten 式と同一式となる。

4) Contois 式

Contois は、 μ を S とともに細胞数濃度 P の関数として表わした。⁸¹⁾

$$\mu = \mu_m \left(\frac{S}{BP + S} \right) \quad (2-27)$$

B : 一定の条件では定数

このように さまざまなモデルが考えられてきた。

(3) バッチ系における増殖理論

バッチ系における増殖理論を図-2-36 に示す。

① 誘導期

藻類を接種したあとすぐには細胞分裂なしに量が増え、その後分裂を始める。この期間は藻類と培地の性質により異なる。

② 対数増殖期

μ = 一定で増殖を続ける。 μ に影響を与える因子としては、栄養塩濃度、pH、温度、光などさまざまな物理、化学的因子である。バッチ系においては、対数増殖期は短く、全くな

③ 定常期

増殖が栄養塩濃度により制限を受け、場合によっては自己の代謝産物の蓄積などにより停止する。

④ 死滅期

細胞が死滅を始め、生細胞が減少する。

バッチ系においては、細胞数濃度 X および制限栄養塩濃度 S が常に変化していく。したがって、何が最大細胞数濃度 X_m を制限するかが問題となる。図-2-37によりバッチ系のモデルを考える。

$$X_m = X_0 e^{\mu_b t_e} \quad (2-28)$$

X_m : 最大細胞数濃度

X_0 : $t=0$ の細胞数濃度

μ_b : バッチにおける比増殖速度

t_e : $\mu_b=0$ になるまでの時間

ここにおいて μ_{mb} (バッチにおける最大増殖速度) は、制限栄養塩濃度の1次の関数と考えられるが、 t_e に関しては他のいろいろの因子の影響を受け、簡単には定義できない。

(2-19)式より μ_{mb} は、次のように定義できる。

$$\mu_{mb} = \frac{\ln(X_{n+1}) - \ln(X_n)}{\Delta t} \quad (2-29)$$

X_{n+1} : 時間 $(n+1)\Delta t$ における細胞数濃度

X_n : 時間 $n\cdot\Delta t$ における細胞濃度

Δt : n 回目の測定から $(n+1)$ 回目の測定までの時間

バッチ系においても μ_{mb} に関し、

$$\mu_{mb} = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (2-30)$$

と定義できる。 μ_b が異なる時の X_m との関係を図-2-38に示す。

(4) ロジスティック曲線

一方マルサスの人口論をその理論的背景として、定式化した一種のロジスティック曲線⁸²⁾を微生物のバッチ培養に適用することができるとしている例もある。¹⁵⁾ すなわち、

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k}{X_m} X (X_m - X) \quad (2-31)$$

X : 微生物量

X_m : 最大微生物量

k : 増殖速度定数

を仮定する。この式を $t=0$ で $X=X_0$ という初期条件のもとで積分すると、

$$\ln \frac{X}{X_m - X} = kt + C \quad (2-32)$$

ただし、
$$C = \ln \frac{X_0}{X_m - X_0}$$

となる。したがって X_m を既知とし、(2-32)式の左辺を t の関数として図示すると傾き k を求めることができる。(2-32)式より

$$X = \frac{X_m}{1 + C'e^{-kt}} \quad (2-33)$$

ただし $C' = e^{-C}$

となりロジスティック曲線の一般形となる。

本章の実験結果たとえば〔4〕高栄養塩レベルの試水に関する実験における下水処理水添加率と藻類最大増殖量とは必ずしも比例的な関係を示していないことなどから、本章のバッチ培養を単一の増殖制限栄養塩のみに支配されている系であるとみなすことは困難であり、制限栄養塩を用いた理論の本実験への適用は適切ではないと考えられる。そこで制限栄養塩を用いない理論としてロジスティック曲線を取りあげ、この理論の本実験への適用について検討した。(2-32)式の実験結果への適用の可否についての検討は本論文の着眼点の1つである。

〔4〕高栄養塩レベルの試水の実験において(2-32)式の適用を試みた。その1例を *Selenastrum* による過処理2次処理水の場合について図-2-39に示す。ただし図-2-39においては藻類増殖量 X を用いず、測定値 Y ($X = Y - Y_0$) を用いた。これは増殖量においては $X_0 = 0$ となるため現存量として Y を用いたものである。

$$\ln \frac{Y}{Y_m - Y} - \ln \frac{Y_0}{Y_m - Y_0} = kt \quad (2-34)$$

また k がほぼ一定となり、4本の直線が重なり見にくくなるのを防ぐため図-2-39の縦軸には(2-36)式の左辺を $1/Y_m$ 倍した値として示したが、直線性に変化はない。*Selenastrum*における k の値を表-2-32に示す。表-2-32において k の値は特殊な値を除き200~280付近の値を示しておりロジスチック曲線の適用の妥当性を示している。*Selenastrum*以外の藻類を用いた実験結果においては k の値にややばらつきがあったが、(2-34)式の直線性はほぼすべての場合に認められた。 k の値を事前に得ることができれば最大増殖量に達する以前に k の値より Y_m あるいは X_m の値の推定が可能である。これにより培養日数の短縮が可能となり、実用上大きな意味を有すと考えられる。

第5節 要約

本章においては、AGPの測定法として一般に行なわれているバッチ式藻類増殖試験法の簡易法として、試料容量を10mlとし試験管により培養を行ない、藻類量として試験管のまま藻類懸濁液を測定する試験法を提案し、この簡易な試験法に対する検討、適用範囲に対する検討、理論的考察などを行なった。

以下に本章の結論を列挙する。

- 1) 簡易法に用いたスクリューキャップは気体の流通性があり、使用が可能である。
- 2) 簡易法の標準的な藻類としては *Selenastrum* を用いたが、藻類の種類により異なった傾向が認められる場合があり、対象とする水質の評価に適した藻類種を選ぶ必要がある。
- 3) 前処理としての過処理を行なった試料はオートクレーブ処理を行なった試料の約2倍の増殖量を示したが、一般的に、手法としてはオートクレーブ処理の方が簡易法として適していると考えられる。
- 4) 本実験の藻類培養で行なった程度の振とう法は試験管も培養容器とした場合、あまり効果がないものと推定される。
- 5) 最大増殖量に達するには2, 3週間を要したが、2週間以降における増殖量はそれほど大きな値とはならず、実用的には培養期間は2週間ほど十分となるように試料を湖水などにより適切に希釈することが必要である。
- 6) 簡易法は自然水などの低栄養塩レベルの試水への適用はあまり適当ではないが、下水処理水などの高栄養塩レベルの試水への適用は十分可能である。
- 7) 下水処理水の藻類増殖量に与える影響に関しては、1次処理水は生下水の場合とあまり違いはなく、2次処理水は生下水の場合よりかなり減少 (*Anabaena*, *Closterium* の場合 50~60%に、*Selenastrum* の場合 15~30%に減少)、生物処理による効果を示した。
- 8) 下水処理水の希釈率と藻類増殖量とは必ずしも比例的な関係は認められず、10

%以下の添加率において急激な増加を示しており、現実の場合においても少量の下水処理水の水域への放出がAGPに大きな影響を与える可能性がある。

- 9) 連続培養により比増殖速度を得たが望ましい値は得られず、この実験装置は培養容器、照度などの改良が必要である。
- 10) バッチ培養による藻類増殖量にはロジスティック曲線を適用でき、増殖速度定数 k を求めることにより最大増殖量に達する以前に最大増殖量の推定が可能である。

以上を要約すると次のようになる。本章において提案した藻類増殖試験の簡易法は十分実用化が可能であり、特に下水処理水などの高栄養塩レベルの試水に適している。下水の二次処理によりAGPは減少するが、水域の富栄養化への影響は小さくない。バッチ培養における藻類増殖量にはロジスティック曲線の適用が可能である。

参 考 文 献

- 1) G. Bringman und R. Kühn: Der Algal-Titer als Masstab der Eutrophierung von Wasser und Schlamm, Gesundheitsingenieur, 77, 374 (1956)
- 2) G. Bringmann und R. Kühn: Veränderungen der Eutrophierung und Bio-Production am Bio-massentier von Testalgen, Gesundheitsingenieur, 79, 50 (1958)
- 3) O. M. Skulberg: Algal Cultures as a Means to Asses the Fertilizing Influence of Pollution, Proc. 3rd Int. Conf. on Wat. Poll. Res., 1, 113 (1966)
- 4) Joint Industry / Goverment Task Force on Eutrophication: Provisional Algal Assay Procedure (1969)
- 5) National Eutrophication Research Program, Environmental Protection Agency: Algal Bioassay Procedure, Bottle Test, Corvallis, Oregon (1971)
- 6) U.S. Environmental Protection Agency: Proceedings Biostimulation-Nutrient Assesment Workshop, Corvallis Environmental Research Laboratory, Corvallis, Oregon (1975)
- 7) E. J. Middlebrooks et al.: Biostimulation and Nutrient Assesment Workshop Proceeding Utah Water Research Laboratory (1975)
- 8) APHA, AWWA, WPCF: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 14th Ed., 744 (1976)
- 9) 須藤隆一ほか: 富栄養化に関する基礎的研究(第1報)—汚濁水域における藻類の現存量と増殖速度, 昭和47年醸造工学会講演集, 66 (1972)
- 10) 森忠洋ほか: 富栄養化に関する基礎的研究(第2報)—生物処理水の生産力, 昭

和47年醗酵工学会講演集

- 11) 田宮博, 渡辺篤編: 藻類実験法, 南江堂, 東京, 50 (1965)
- 12) R. F. Malone et al. : The Effects of Media Modification upon *Selenastrum capricornutum* in Batch Cultures, Biostimulation and Nutrient Assessment, Ann Arbor Science, 267 (1976)
- 13) 須藤隆一ほか: 富栄養化を評価するための藻類培養試験, *13回下水道研究発表会講演集, 518 (1976)
- 14) C. G. Forsberg : Algal Assay Procedure, J. W. P. C. F. 44, 1623 (1972)
- 15) 須藤隆一ほか: 藻類培養試験による富栄養化の評価; 用水と廃水, 15, 107 (1973)
- 16) D. S. Filip and E. J. Middle brooks : Evaluation of Sample Preparation Techniques for Algal Bioassays, Wat. Res., 9, 581 (1975)
- 17) J. F. Jadlocki et al. : Effects of Water Hardness, Phosphorus Concentration and Sample Pretreatment on the Algal Assay Procedure—Bottle Test, Biostimulation and Nutrient Assessment, Ann Arbor Science, Michigan, 323 (1976)
- 18) W. J. Oswald and C. G. Golueke : Eutrophication Trends in the United States — A Problem?, J. W. P. C. F., 38, 964 (1966)
- 19) S. Murray et al. : Evaluation of Algal Assay Procedures—PAAP Batchtest, J. W. P. C. F., 43, 1991 (1971)
- 20) W. A. Kratz and J. Myers : Nutrition and Growth of Several Blue-green Algae, Amer. Jour. of Botany, 42, 282 (1955)

- 21) 岡田光正, 須藤隆一: AGP をめぐる諸問題, 用水と廃水, 20, 765 (1978)
- 22) E.J. Middlebrooks et al.: Eutrophication of Surface Water - Lake Tahoe, J.W.P.C.F., 43, 242 (1971)
- 23) S.P. Chu: The Influence of the Mineral Composition of the Medium on the Growth of Plankton Algae. I. Methods and Culture Media, J. Ecol., 30, 284 (1942)
- 24) J.C. Greene et al.: The Relationship of Laboratory Algal Assays to Measurements of Indigenous Phytoplankton in Long Lake, Washington, Biostimulation and Nutrient Assessment, Ann Arbor Science, Michigan, 93 (1976)
- 25) W. Rodhe: Environmental Requirements of Freshwater Plankton Algae, Symb. Bot. Uppsal., 10, 1 (1948)
- 26) G. Gerloff et al.: The Mineral Nutrition of *Microcystis aeruginosa*, Ame. J. Bot., 39, 26 (1952)
- 27) W.R.G. Atkins: The Phosphate Content of Fresh and Salt Waters in the Relationship to the Growth of Algal Plankton, J. Mar. Biol. Assoc., 13, 110 (1923)
- 28) C.N. Sawyer: Fertilization of Lakes by Agricultural and Urban Drainage, J.N.E. Water Works Assn., 61, 109 (1947)
- 29) T.E. Maloney et al.: Use of Algal Assays in Studying Eutrophication Problems, 6th International Water-Pollution Research, III-6 (1972)
- 30) 須藤隆一: 廃水処理の生物学, 産業用水調査会, 東京, 520 (1977)
- 31) J. Shapiro: A Statement on Phosphorus, J.W.P.C.F., 45, 772 (1970)
- 32) F.H. Rigler: A Tracer Study of the Phosphorus Cycle in

- Lake Water, Ecology, 37, 550 (1956)
- 33) E.M. Davis and M.J. Willcomb: Condensed Phosphate Degradation and Assimilation by Selected Blue Green Algae, Wat. Res., 2, 311 (1968)
 - 34) B. Moss: Limitation of Algal Growth in Some Central African Waters, Lim. Ocean., 14, 591 (1969)
 - 35) W. Lange: Limiting Nutrient Elements in Filtered Lake Erie Water, Wat. Res., 5, 1031 (1971)
 - 36) D.L. King: The Role of Carbon in Eutrophication, J.W.P.C.F., 42, 2035 (1970)
 - 37) W. Lange: Effect of Carbohydrates on the Symbiotic Growth of Planktonic Blue-Green Algae with Bacteria, Nature, 25, 1277 (1967)
 - 38) J. Lewin and C. Chen: Available Iron: A Limiting Factor for Marine Phytoplankton, Lim. Ocean., 16, 670 (1971)
 - 39) E. J. Middlebrooks et al.: Eutrophication of Surface Water Lake Tahoe, J.W.P.C.F., 43, 242 (1971)
 - 40) E. G. Srinath and S. C. Pillai: Phosphorus in Wastewater Effluent and Algal Growth, J.W.P.C.F., 44, 303 (1972)
 - 41) 森忠洋ら: 富栄養化に関する基礎的研究, 日本環境工学会大会講演集昭和47年, 57 (1972)
 - 42) 森忠洋ら: AGP法による富栄養化の評価, 第10回下水道研究発表会講演集昭和48年度, 313 (1973)
 - 43) 須藤隆一ら: 都市下水の2次処理水が示す藻類生産の潜在能力, 下水道協会誌, 12, 22 (1975)
 - 44) T. Maloney: Detergent Phosphorous Effect on Algae,

J. W. P. C. F., 38, 38 (1966)

- 45) D. Mitchell : Eutrophication of Lake Water Microcosms; Phosphate versus Nonphosphate Detergent, Science, 174, 827 (1971)
- 46) D. E. Francisco and C. M. Weiss : Algal Response to Detergent Phosphate Levels, J. W. P. C. F., 45, 480 (1973)
- 47) G. P. Fitzgerald : Aerobic Lake Muds for Removal of Phosphorus from Lake Water, Lim. Ocean, 15, 550 (1970)
- 48) W. E. Miller *et al.* : Application of Algal Assays to Define the Effects of Wastewater Effluents Upon Algal Growth in Multiple Use River System, Bio-stimulation and Nutrient Assessment, Ann Arbor Science, 77 (1976)
- 49) A. G. Payne : Application of the Algal Assay Procedure in Biostimulation and Toxicity Testing, Biostimulation and Nutrient Assessment Utah Wat. Res. Lab., 3 (1975)
- 50) D. Mitchel and J. C. Buzzel : Estimating Eutrophic Potential of Pollutants, J. A. S. C. E., 97, 453 (1971)
- 51) G. Y. Rhee : Competition between an Alga and an Aquatic Bacterium for Phosphate, Lim. Ocean, 17, 505 (1972)
- 52) D. B. Borcella *et al.* : Sediment-Water Microcosms for Assessment of Nutrient Interactions in Aquatic Ecosystems, Biostimulation and Nutrient Assessment, Ann Arbor Science, Michigan, 293 (1976)
- 53) 七字三郎: 微生物工学の応用, 共立出版, 東京, 298 (1973)

- 54) V. Bryson : The Turbidostatic Selector— A Device for Automatic Isolation of Bacterial Variants, Science, 116, 48 (1952)
- 55) A. Novick and Szilard: Experiments with the Chemostat on Spontaneous Mutations of Bacteria, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 36, 708 (1950)
- 56) John H. Northrop: Apparatus for Maintaining Bacterial Cultures in the Steady State, J. Gen. Physiol., 38, 105 (1954)
- 57) Boris Rotin : A Simplified Device for Continuous Growth of Microorganisms, J. Bact., 70, 485 (1955)
- 58) L. Zubrzycki and E. H. Spaulding : A Continuous Flow Apparatus for the Study of Mixed Cultures, J. Bact., 75, 278 (1958)
- 59) Paul van Hemert : The "bilthoven Unit" for Submerged Cultivation of Microorganisms, Biotech. and Bioeng. VI, 381 (1964)
- 60) R. Elsworth et al. : A Two Litre Scale Continuous Culture Apparatus for Micro-organisms, J. Appl. Bact., 19, 264 (1956)
- 61) D. Herbert, P. J. Phipps, D. W. Tempest: The Chemostat: Design and Instrumentation, Labor. Pract., 14, 1150 (1965)
- 62) W. O. Pipes and S. P. Koutsoyannis: Light-limited Growth of Chlorella in Continuous Cultures, Appl. Microbiol. 10, 1 (1962)
- 63) Wesley O. Pipes : Carbon Dioxide—Limited Growth

- of *Chlorella* in Continuous Culture, *Appl. Microbiol.*, 10, 281 (1962)
- 64) W.J. Oswald and C.G. Golueke: Biological Transformations of Solar Energy, *Advances in Appl. Microbiol.*, 2, 223 (1960)
- 65) J.C. Goldman and H.I. Stanley: Relative Growth of Different Species of Marine Algae in Wastewater-Seawater Mixtures. *Marine Biology*, 28, 17 (1974)
- 66) D.M. Trotter and A.C. Hendricks: The Use of *Stigeoclonium subsecundum* (Chlorophyceae) as A Bioassay Organism II. The Use of Stigeometers in a Continuous Flow System, *Water Research*, 10, 913 (1976)
- 67) Thomas D. Brock: Microbial Growth Rates in Nature, *Bacteriological Reviews*, 35, (1), 39 (1971)
- 68) J. Monod: The Growth of Bacterial Cultures, *Ann Review of Microbiol.*, 3, 371 (1949)
- 69) A. Novick and K. Szilard: Description of the Chemostat, *Science*, 112, 715 (1950)
- 70) D. Herbert, R. Elsworth and R.C. Telling: The Continuous Culture of Bacteria; a Theoretical and Experimental Study. *J. gen. Microbiol.*, 14, 601 (1956)
- 71) E.A. Dawes: Quantitative Problems in Biochemistry, E. & S. Livingstone LTD, London (1967); 中島一郎, 岩坪源洋, 山野俊雄, 久保秀雄訳, 生物物理化学, 328, 共立出版, 東京 (1971)
- 72) 水野寿男: 日本淡水プランクトン図鑑, 保育社, 東京, 118 (1964)

- 73) 日本下水道協会編: 下水試験方法, 132 (1974)
- 74) APHA, AWWA, WPCF: Standard Methods, 13th Ed., 561 (1971)
- 75) 合田健: 富栄養化の防止を目的とした下水処理, 用水と廃水, 15, 95 (1973)
- 76) 11) に同じ, 198
- 77) P. H. McGanhy *et al.*: First Progress Report "Eutrophication of Surface Waters - Lake Tahoe Bioassay of Nutrient Sources", Lake Tahoe Area Council, South Lake Tahoe, California, 178 (1968)
- 78) D. B. Porcella *et al.*: Provisional Algal Assay Procedures: First Annual Report, SERL Report No. 70-8, University of California, Berkeley, California, (1970)
- 79) G. Teisser: Les Lois Quantitative de la Croissance, Ana. Physiol. Physiocochem. Biol., 12, 527 (1936)
- 80) H. Moser: The Dynamics of Bacterial Populations Maintained in the Chemostat, Publication No. 614, Carnegie Institute of Washington (1958)
- 81) D. E. Contois: Kinetics of Bacterial Growth Relationship between Population Density and Specific Growth Rate of Continuous Cultures, J. Gen. Microbiol., 21, 40 (1959)
- 82) 円山由次郎: 需要予測と時系列分析, 日本生産性本部, 東京, 56 (1963)
- 83) R. E. McKinney: Microbiology for Sanitary Engineers, McGRAW-HILL BOOK CO., INC., London, 112 (1962)
- 84) 日本水産学会編: 水圏の富栄養化と水産増養殖, 恒星社厚生閣, 東京, 12 (1973)

第3章 藻類増殖試験法による下水3次 処理の評価に関する研究

第1節 概説

第2章において簡易化した藻類増殖試験法に関する基礎的な研究を行ない、下水処理水などを含む比較的高栄養塩レベルの試水に対しては非常に有効であることを明らかにした。そこで、本章においてはこの簡易法を用いて下水3次処理の富栄養化防止効果のAGPによる評価を試みた。

3次処理においては生物学的な窒素除去および物理化学的リン除去をパイロット・プラントにより行ない各処理段階の処理水を湖沼水に添加し、第2章と同様の方法により藻類増殖試験を行ないその効果について検討を加えた。

湖沼などの富栄養化の防止対策として下水3次処理は緊急の課題として研究されまた実施されつつあるが、3次処理の効果、水域への影響などの評価においてAGPは非常に重要な総合的指標であり、各々の水域において何をどの程度まで処理すべきかについて適確な知見を得ることが可能である。

第2節 3次処理および3次処理のAGPによる評価に関する文献的考察

富栄養化防止のための3次処理法としてさまざまな方法が研究され実施されているが、主に窒素除去、リン除去に関して現在行なわれている処理内容を明らかにし、さらにこれまでに行なわれたAGPによる3次処理の評価について検討を加える。

2-1 富栄養化防止のための3次処理

富栄養化の防止には一般に窒素またはリンの一方あるいは両者の除去が行なわれる。制限因子に関して述べたごとく、厳密にはさまざまな複雑な因子により富栄養化現象が起こっているわけであるが、栄養塩として窒素およびリンが主要な役割を果たしていることは疑いない。活性汚泥法は元素有機物の除去が目的であり、窒素、リンの除去率はそれぞれ30~50%および、20~30%程度であり、活性汚泥処理水にさらに富栄養化の防止のための3次処理として窒素またはリン除去処理を行なうのが一般的である。

〔1〕 生物学的硝化、脱窒による窒素除去

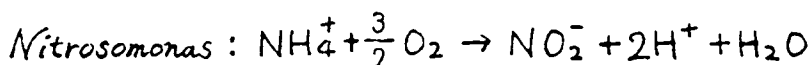
窒素化合物は無機性および有機性に大別されるが、無機性の窒素化合物においてもアンモニアのように水溶性の強いものや窒素ガスのように気体として存在するものなど複雑な形態を有し、また循環している。自然界におけるこれらの循環の過程には微生物が強く関与しており、生物学的硝化、脱窒においてもこれらの作用が利用されている。自然界における窒素化合物の循環を図-3-1に示す。¹⁾

硝化過程においてはアンモニア性窒素が硝化菌により硝酸性窒素に変換され、脱窒過程では脱窒菌により N_2 、 N_2O 、 NO などのガスとして系外に排出することにより窒素除去を行なうわけであるが、これらの窒素代謝を図-3-2に示す。²⁾

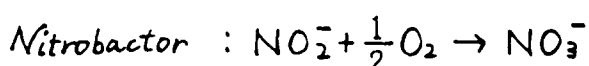
(1) 硝化

硝化過程においてアンモニア性窒素は *Nitrosomonas* および *Nitrobacter* により2段階で酸化される。

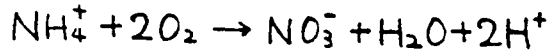
第1段階



第2段階

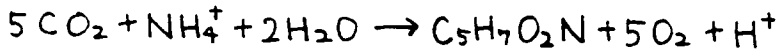


つまりこの2段階を合わせると



となる。

また、硝化菌は自栄養性細菌であり有機物がなくともアンモニア性窒素を同化するが、それは次式で表わされる。³⁾



硝化速度に影響する因子には pH, DO, 共存有機物量, 汚泥令, 水温などがある。

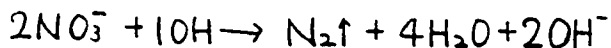
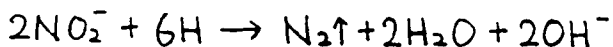
pH に関しては, *Nitrosomonas* で pH = 7.5 ~ 8.5, *Nitrobacter* で pH 6.5 ~ 8.0 が至適 pH 域とされており, ほぼ pH = 7.4 ~ 8.6 の範囲であればよいとされている。また図-3-3 に示すごとく, pH が 7 以上では有意の差は認められなかったとする実験結果もある。⁴⁾ DO に関しては少なくとも 0.5 ppm 以上必要だとされている。⁵⁾

水温や微生物の平均滞留時間などの設計操作因子を表-3-1 に示すが,^{6) 7)} このほか, し尿処理水を用いた硝化の支配因子に関する研究も行なわれている。⁸⁾

(2) 脱窒

硝化過程により酸化された亜硝酸性窒素や硝酸性窒素は脱窒菌により嫌氣的に N_2O や N_2 となって大気中に放散される。脱窒菌としては *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas stutzeri*, *Micrococcus denitrificans* などがあげられているが, これらは通性嫌気性菌であり, 同時に他栄養性細菌であるため水素受容体として有機炭素が必要である。

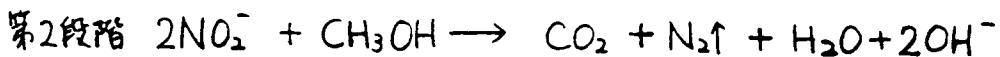
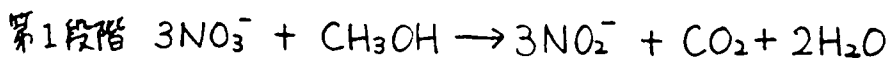
亜硝酸性窒素, 硝酸性窒素の還元反応は次式で表わされる。



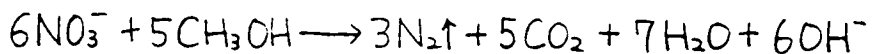
これらの反応により pH は上昇していく。

脱窒反応を有効に働かせるためには、有機炭素源の質的特性や添加率の影響など基礎的な研究が必要であり、硝酸呼吸の代謝サイクルの理論的研究や系統的な実験が行なわれた⁽¹⁰⁾。生下水を有機炭素源として添加した場合は、未酸化の窒素化合物が増え、BODを増す結果となった。⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ このほか酢酸、エタノール、糖類などについて検討されたが、メタノールが最も安価で有効であり、⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾ 実際の処理計画においてもメタノールの使用が前提となっていることが多い。⁽¹⁶⁾

メタノールを用いた場合の脱窒過程の反応は次式で表わされる。

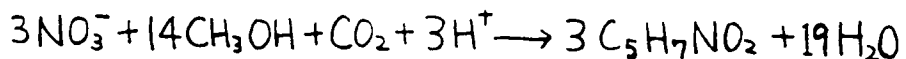


2式を総合すると、



となり、6 mol の硝酸に対し 5 mol のメタノールが必要となる。

また硝酸は次式により同化される。⁽¹⁷⁾



実際には亜硝酸や溶存酸素が関係しており、実用上は次式などが用いられる。⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾

$$C_m = 2.47N_o + 1.53N_i + 0.87D_o$$

C_m : メタノール必要量 (ppm)

N_o : 硝酸性窒素濃度 (ppm)

N_i : 亜硝酸性窒素濃度 (ppm)

D_o : 溶存酸素 (ppm)

$$C_m = 2.3(N_o - N) + 1.0D_o$$

N : 流出水中の硝酸性窒素

また必要な有機物量としては次式が実験的に得られている。¹⁹⁾

$$C_m = 3.85N_o + 1.5D_o$$

C_m : 必要な有機物量 (ppm)

脱窒過程の反応速度もやはり pH, 温度, 有機炭素源, 溶存酸素濃度などにより影響を受ける。温度の影響に関しては, 図-3-4に示す実験結果²²⁾や図-3-5-a, 図-3-5-bに示す実験結果が得られており,²⁰⁾文献的には表-3-2に示す値が得られている。pHに関しては, 図-3-6や図-3-7に示す実験結果²⁰⁾や図-3-8に示す実験結果が得られており, 有機物の影響に関しては図-3-9に示す結果が得られている。²⁷⁾

自然界における硝化脱窒作用は古くから研究がなされてきたが,²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾生物処理としてまとめられたものは Wuhrmann 方式³¹⁾と Bringmann 方式³²⁾に分類できる。Wuhrmann 方式は脱窒において汚泥の内呼吸を利用するものであり, Bringmann 方式は脱窒において有機炭素源を添加するものであるが, 処理装置の大きさや窒素除去率の点からは Bringmann 方式がすぐれている。³³⁾

処理工程に関しては, 有機物の酸化, 硝化, 脱窒の工程をどのように組み合わせるかによりいくつかの種類に分類できるが, その代表的なフローシートを図-3-10に示す。³⁴⁾この他1段階の硝化, 脱窒方式なども研究されており,³⁵⁾2段階の場合との比較などが行われている。³⁶⁾

この他, 活性汚泥方式とせす接触床方式により脱窒を行なう研究もあり,³⁷⁾活性汚泥方

式との比較において、良い実験結果を得ている。³⁹⁾また回転円板法による処理も行なわれている。^{39) 40)}

窒素除去法として生物学的硝化、脱窒法は 1) 有機性窒素の除去が可能である。2) 排出形態が窒素ガスであり二次公害の恐れが少ない。3) 処理機能が安定しているなどの点においてすぐれているが、これ以外にも次のような窒素除去法が行なわれている。

- 1) アンモニア・ストリッピング^{41) 42)}
- 2) イオン交換^{43) 44)}
- 3) 不連続点塩素処理⁴⁵⁾
- 4) 逆浸透⁴⁶⁾
- 5) 酸化池
- 6) 森林かんがい⁴⁷⁾

〔2〕 リン除去

リン除去法として凝集沈殿法は最も有効な方法であり、使用する凝集剤により石灰凝集と金属塩凝集に大別される。

(1) 石灰凝集

石灰による二次処理水のリン除去は以前から研究が行なわれてきた。⁴⁸⁾カルシウムによるリンの除去の典型的な反応式は次のごとくである。

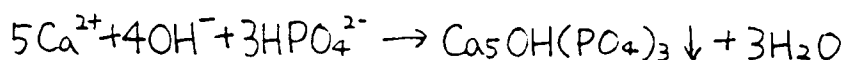
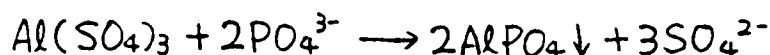


図-3-11に消石灰とリン除去の関係を示し、図-3-12に pH と残留リン酸との関係を示す。⁴⁹⁾一般にアルカリ度が 200 ppm 以上であれば pH 9.5 程度で十分なリン除去率が得られる。石灰凝集沈殿システムを図-3-13に示す。⁵⁰⁾

(2) 金属塩凝集

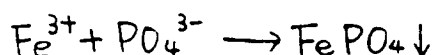
凝集剤として用いられる金属塩にはアルミニウム塩と鉄塩がある。

硫酸アルミニウムによるリン除去の反応は次式で示される。



理論的にはリン酸 1 mol とアルミニウム 1 mol が反応する。アルミニウムとリンの比と除去率の関係を表-3-3に示す。⁵⁰⁾ また pH としては pH 6 が至適 pH とされている。

鉄塩によるリン除去の反応は次式で示される。



第2鉄塩を凝集剤として用いた時の至適 pH は 4.5, 第1鉄塩の場合は pH 8 付近である。⁵⁰⁾

このほか下水中のリン除去法としては次のような方法があげられる。⁵¹⁾

- 1) 活性汚泥法^{52) 53)}
- 2) 酸化池
- 3) 森林かんがい
- 4) 吸着, イオン交換⁵⁴⁾
- 5) 逆浸透

2-2 3次処理水のAGPによる評価

実験室内において2次処理水に凝集剤を添加するなどした3次処理水のAGPを測定し、富栄養化への影響についての検討を行なうなどの研究が行われてきた。

E. J. Middlebrooks は Tohoo 湖において、生下水, 1次処理水, 2次処理水, 3次処理水の富栄養化に対する影響の評価を *Selenastrum gracile* を用いて行なった。⁵⁵⁾ その結果を5日後の細胞濃度として表-3-4に示した。表-3-4によれば, 1次処理

水, 2次処理水が藻類の増殖に大きく影響を与えていると考えられる。また, 比増殖速度 μ による評価では, 窒素では $300\mu\text{g}/\text{l}$, リンにおいては $50\mu\text{g}/\text{l}$ までの濃度において μ が基質濃度に対し, 直線的に増加すると述べている。

PAAP増殖に関する研究およびShagawa湖水に関する研究がW. E. Millerにより行なわれた。⁵⁰⁾ 接種藻類として, *Selenastrum capricornutum*を用い, 接種は 初期濃度 $1000\text{個}/\text{ml}$, $24\pm 1^\circ\text{C}$, 4305 lux の条件で 500 ml 容器に 250 ml の試料を入れ, 110 r.p.m. のシェーカーで振とうを行なった。藻類の増殖は, 細胞数とクロロフィル量で測定された。Shagawa湖水に各サンプルを添加し実験結果を乾燥重量として, 表-3-5にあげる。表-3-5によると, 2次処理水, 窒素とリンの添加による増殖が大きい。また, 表-3-6に明ばんを用いた凝集沈殿による3次処理水へのリン再添加による藻類増殖への影響を示す。表-3-6より, 3次処理水ではリンが制限因子であると考えられる。

日本においては森らにより河川水, 活性汚泥処理水のAGPなどが測定されている。⁵⁰⁾ 藻類には *Chlorella* sp., *Stigeodinium tenue*, *Chlamydomonas* sp., *Nitzschia palea*などを用い, 試料 500 ml を 1 l のL字型培養管に入れ, 4000 lux , 20°C , 30 r.p.m. の振とう培養により行なった。東京都の下水処理場からの処理水の評価などを行なったが, そのうちCaOによる3次処理の効果について表-3-7⁶⁰⁾に, 生物学的脱窒処理水の藻類の種類の違いによるAGPの差などについて図-3-14に示す。⁶¹⁾

岡田らによる2次処理水に対する凝集沈殿, 急速ろ過, 活性炭の効果を図-3-15に示す。⁶²⁾ 図-3-15において活性炭処理により湖水のAGPにかなり近い値となっていることが認められる。いくつかの下水処理場の凝集沈殿による全リン濃度とAGPを表-3-8に示す。⁶³⁾ 表-3-8においてリンの除去の効果は明らかである。

硝化処理, 脱窒処理, 脱リン処理のAGPに対する効果を図-3-16に示す。⁶⁴⁾ 2次処理水の水質は $\text{T-N } 11.2\text{ mg}/\text{l}$, $\text{NH}_4\text{-N } 5.8\text{ mg}/\text{l}$, 硝化処理水の水質は $\text{T-N } 8.9\text{ mg}/\text{l}$, $\text{NO}_3\text{-N } 7.2\text{ mg}/\text{l}$, 脱窒処理水の水質は $\text{T-N } 2.8\text{ mg}/\text{l}$, $\text{NO}_3\text{-N } 0.7\text{ mg}/\text{l}$ であり, さらに脱リンを行なった処理水の水質は $\text{T-N } 2.6\text{ mg}/\text{l}$, $\text{T-P } 0.04\text{ mg}/\text{l}$ であった。

第3節 藻類増殖試験法による下水3次処理の評価に関する研究

第2章において用いた簡易化された藻類増殖試験法は下水処理水などを含む比較的富栄養な試水に対して有効であることが明らかとなった。そこでこの試験法を用いて、富栄養化防止対策を検討すべく行なったパイロットプラントによる3次処理試験の各段階の処理水を対象としてAGPの測定を行ない、3次処理の効果に対する評価を行なった。

3-1 実験方法

3-1-1 3次処理パイロットプラント

下水2次処理水に対し、3次処理として生物学的処理による窒素除去および物理学的処理によるリン除去をパイロットプラントにより行なった。窒素除去には硝化工程と脱窒工程が含まれ、リン除去には凝集沈殿、砂ろ過、活性炭吸着が含まれる。そのフローシートを図-3-17に示す。パイロットプラントが設置された某下水処理場への下水流入量は $130000\text{ m}^3/\text{日}$ で、その水質はおおよそBOD 250 ppm , SS $200\sim300\text{ ppm}$ であった。

3次処理プラントの設計処理量は $5\text{ m}^3/\text{hr}$ であり、そのうち $2.5\text{ m}^3/\text{hr}$ は生物学的処理に、残りの $2.5\text{ m}^3/\text{hr}$ を物理学的処理に用いた。各処理施設の形状、有効容量、滞留時間などの主要な仕様を図-3-17中に示す。生物学的窒素除去プロセスにおける硝化、脱窒工程はいずれも汚濁流方式によるものであり、硝化槽のMLSS $1000\sim4000\text{ ppm}$, 曝気空気量 $30\text{ m}^3/\text{hr}$, DO $0.5\sim1.2\text{ ppm}$ とした。また、硝化処理水の $1/2$ の量($1.25\text{ m}^3/\text{hr}$)にメタールを添加し脱窒を行ない、脱窒槽MLSS $3000\sim5000\text{ ppm}$, pH $7.1\sim7.5$ とした。物理化学的リン除去プロセスにおける凝集槽への凝集剤として、PACまたは硫酸バンドを用いた。砂ろ過塔は2基設け、ろ材には砂とアンササイトを用い、2基を並列に使用した。活性炭塔も同じく2基設置し、使用活性炭はフィルトラソープ400で、2基を直列に使用した。

水質の測定は工場排水試験方法JIS K0102によった。CODは 100°C におけ

る過マンガン酸カリウムによる酸素消費量である。

3-1-2 藻類増殖試験

2次処理水および3次処理パイロットプラントの各段階での処理水を近江大橋(大津市, 草津市間)より採りし琵琶湖南湖水に添加し, 藻類増殖におよぼす影響について検討した。実験は〔1〕生物学的処理水, 物理化学的処理水の両者を対象とするものと, 〔2〕物理化学的処理水のみを対象とするものの2種である。なお, リン濃度, 各窒素濃度は下水試験方法⁶⁵⁾により, 全リン濃度は Standard Methods⁶⁶⁾による硫酸硝酸分解法によった。

〔1〕生物学的処理水, 物理化学的処理水による藻類増殖試験

試料として, 2次処理水, 生物学的処理における硝化処理水, 脱窒処理水および物理化学処理における凝集沈殿処理水を用いた。ただし, 2次処理水の窒素濃度が一般的な値より低かったため, 生物学的処理プラントでは2次処理水に NH_4Cl を添加し $\text{NH}_4\text{-N}$ を約30 ppmとして3次処理を行なった。したがって, 本実験においても2次処理水, 凝集沈殿処理水に NH_4Cl を添加し, $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度を27 ppmとしたものを試料とした。添加率は2次処理水の場合0.5, 1.5, 10, 25, 50, 75, 100%の8段階, 3次処理水の場合25, 50, 75, 100%の4段階とし, 対照には無添加湖水を用いた。さらに, リン除去の効果を検討するため, 凝集沈殿処理水に K_2HPO_4 をPとして0.001~1 ppmの範囲で4段階にわたり再添加し試料とした。

培養方法は第2章の簡易法と同様である。つまり, *Selenastrum* を供試藻類とし, 試料容量10 ml, スクリューキャップ付き試験管での静置培養である。ただし照度は平均3200 luxとし, 藻類量の測定は600 nmにおける吸光度を用いた。培養期間は藻類が最大増殖に達し藻類量がほぼ一定となるまでの20~30日間とした。

〔2〕物理化学的処理水による藻類増殖試験

試料として2次処理水, 凝集沈殿処理水, 活性炭処理水を用いた。添加率は25, 50, 75, 100%の4段階とした。対照として蒸留水を用いた。培養方法は〔1〕生物学的処

理水、物理化学的処理水による増殖試験とまったく同様である。

3-2 実験結果および考察

3-2-1 3次処理パイロット・プラント

3次処理パイロットプラントに流入する2次処理水の水質はおおよそCOD 10~30 ppm, SS 5~40 ppm, pH 6~8であった。

生物学的処理において、硝化槽への流入2次処理水の水質は $\text{NH}_4\text{-N}$ 25~35 ppm, $\text{NO}_3\text{-N}$ 5~10 ppmであるのに対し、硝化沈殿槽からの流出水の水質は $\text{NH}_4\text{-N}$ 0~13 ppm, $\text{NO}_3\text{-N}$ 20~40 ppmとし、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 減少率は75~100%となった。硝化処理水中に原則として $\text{NH}_4\text{-N}$ が残留しているような操作条件を設定した理由は、硝化速度の算定を行なうためである。硝化に影響を与える因子としてpHと温度に関して検討を加えた結果、水温の影響を強く受けていることが明らかとなった。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 減少速度と温度との関係を図-3-18に示す。図-3-18において、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 減少速度は20℃において10℃の場合の約2倍、30℃において20℃の場合の約2倍の値を示しており、これは反応速度定数に関する van't Hoff - Arrhenius 式 $K_r = K_{20} A^{T-20}$ におけるAの値として1.08~1.10を標準的な設計因子とする合田⁶⁾の指摘とほぼ一致した。また、pHに関してはpH8の方がpH7より $\text{NH}_4\text{-N}$ 減少速度が大きくなる傾向を示し、一般に弱アルカリ側(pH8前後)に硝化の至適pHが存在するという指摘⁶⁾と一致した。

硝化処理水の $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は2 ppm以下であり、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は20~40 ppmであったのに対し、脱窒沈殿槽からの流出処理水の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度を0.1~15 ppmとし、脱窒工程における脱窒率は25~99%となった。脱窒工程でも不完全な脱窒の状態に留めたのは、操作条件による脱窒率の変化を検討するためである。脱窒の効果は、理論的なメタノール添加量に対する実際に添加したメタノール量の比(M/M_0)により変化した。脱窒率と M/M_0 との関係を図-3-19に示す。図-3-19において、理論的メタノール添加量 M_0 にはMcCartyの提示した次式を用いた。¹⁷⁾

$$C_m = 2.47N_0 + 1.53N_1 + 0.87D_0$$

C_m : メタノール添加量 (ppm)

N_0 : 硝酸性窒素濃度 (ppm)

N_1 : 亜硝酸性窒素濃度 (ppm)

D_0 : 溶存酸素 (ppm)

図-3-19において、 $M/M_0 = 1$ では脱窒率は50~75%, $M/M_0 = 1.5$ では脱窒率は80%以上となり、 $M/M_0 > 2$ では脱窒率は常にほぼ100%を示している。したがって高度の脱窒率を得るには M_0 の1.5倍程度のメタノール添加量が必要であると考えられる。

物理化学的処理における凝集沈殿プロセスにおいて、凝集剤の注入量はPACの場合110~190ppm、硫酸バンドの場合44~90ppmとし、また、pHは6.6~7.1とした。なお、Al含有重量比率はPACの場合約5%、硫酸バンドの場合約9%である。凝集槽への流入2次処理水の PO_4-P 濃度はおよそ1.5~4.0ppmであった。凝集剤中のアルミニウムとリンとのモル比(Al/P)とリン除去率との関係を、PACの場合について図-3-20に示す。図-3-20において、モル比(Al/P)が3以上ではほぼ90%以上の除去率を示しているが、3以下では除去率にばらつきがある。またPACを用いた場合、凝集沈殿処理水中の PO_4-P 濃度は2次処理水の M アルカリ度にも影響を受け、負の相関関係を示した。凝集沈殿処理におけるCODの変化を図-3-21に示す。図-3-21において、2次処理水のCOD値が12~20ppmの場合、処理水のCODの値は6~10ppmとなっており、除去率は50%に近い値となっている。

凝集沈殿と砂ろ過との組み合わせによりCOD除去率はほぼ50%に達した。活性炭吸着におけるCOD除去率は、1段目で約60%、2段目までで約83%であり、処理水中の有機物濃度はきわめて低レベルとなった。

3-2-2 藻類増殖試験

[1] 生物学的、物理化学的処理水による藻類増殖試験

各処理水水質を表-3-9に示す。図-3-22に *Selenastrum* の増殖量と培養日数との関係を、窒素無添加2次処理水を添加した場合について示す。図-3-22において、添加率10%以下では増殖量に大差が認められないが、25%以上においては急激な増殖量の増大を示している。各種下水処理水添加試料における無機窒素濃度、リン濃度および最大増殖量 X_m を表-3-10に示し、この結果について次に検討を加える。

(1) 2次処理水

2次処理水の添加率と最大増殖量 X_m の関係を図-3-23に示す。図-3-23において、窒素添加、窒素無添加のどちらの場合も25%以上の添加率において大きな最大増殖量を示しているが、50%以上の添加率において、窒素無添加の場合は増加の傾向が認められるのに対し、窒素添加の場合は逆に減少している。これは過剰な窒素の存在が藻類増殖に及ぼす抑制作用を及ぼすためと考えられる。窒素添加2次処理水の25%添加溶液の窒素濃度は約12ppmであった。

(2) 硝化処理水、脱窒処理水

硝化処理水、脱窒処理水の添加率と最大増殖量 X_m の関係を図-3-24に示す。図-3-24において、脱窒処理水の最大増殖量は硝化処理水の場合よりすべて小さく、脱窒の効果を示している。硝化処理水では、添加率50%において2次処理水の場合より大きな最大増殖量を示している。脱窒処理水においてはほぼ添加率に従って最大増殖量が増加し、添加率100%において2次処理水の場合の約70%の最大増殖量を示した。

(3) 凝集沈殿処理水

表-3-10に示したように、凝集沈殿処理水添加による最大増殖量は2次処理水の場合よりはるかに小さく、リン除去による藻類増殖の抑制効果が大いことがわかる。凝集沈殿処理水に NH_4Cl を添加しても、最大増殖量に顕著な変化は認められない。したがって、

処理水のリン濃度を 10^{-2} ppmのオーダーに制御すると、藻類の増殖は抑制されると考えられる。

(4) 凝集沈殿処理水へのリン再添加

凝集沈殿処理水に K_2HPO_4 をPとして、0.001, 0.01, 0.1, 1 ppmとなるように再添加した場合における最大増殖量 X_m と再添加リン濃度の関係を図-3-25に示す。図-3-25において、リン再添加により最大増殖量は2次処理水のレベルにまで増加している。凝集沈殿処理によって藻類の増殖が抑制される理由として、リン除去作用のほか、未知の増殖刺激物質が除去されるということも考えられるが、本実験より凝集沈殿の効果はもっぱらリンの除去によるものと結論される。対照とした琵琶湖湖水による最大増殖量が0.041であることから、2次処理水、窒素除去処理水は湖水の数10倍の藻類増殖能力を有し、一方、リン除去処理水は湖水の数倍程度の藻類増殖能力しか有しないと考えられる。

[2] 物理化学的処理水による増殖試験

22日間の培養期間における最大増殖日と最大増殖量 X_m を表-3-11に示す。表-3-11において、 X_m は添加率にはあまり関係せず、特に凝集沈殿処理水、活性炭処理水においては添加率に関係なくほぼ一定の X_m を示している。その値は、凝集沈殿処理水では2次処理水の $1/2 \sim 1/3$ に、活性炭処理水では凝集沈殿処理水の $1/3 \sim 1/4$ に減少している。各試料のCOD濃度と最大増殖量 X_m の関係を図-3-26に示す。図-3-26において、CODと X_m は比例的な関係にはあるが強い相関は示していない。各試料のリン濃度と X_m の関係を図-3-27に示す。図-3-27において、リン濃度が0.001 ppmのオーダーでは X_m は非常に小さく、0.01 ppm以上になると X_m は比例的に増加している。結果として活性炭処理は藻類の増殖に対して大きな抑制効果を示したが、その理由も特別の増殖刺激物質の吸着除去を考えなくても、リン濃度が活性炭処理により、 $1/40$ に低下したことで説明が可能である。活性炭吸着によってリンが除去された理由については、詳細は不明である。

実験結果の全般的な考察を行なうと、3次処理パイロットプラントの処理効果に関しては、生物学的窒素除去工程、物理化学的リン除去工程とも従来より指摘されてきた内容と大差なく、ごく一般的結果が実際の下水2次処理水を用いてパイロットプラント規模で確認されたにすぎない。ただ、物理化学的リン除去工程において、活性炭処理は溶解性有機物の除去には有効であるがリンの除去にはあまり有効ではないと普通考えられているが、本実験においては活性炭処理によりリンの濃度は1桁低下した。これは正リン酸の直接的な吸着によるものか、リン酸金属塩の吸着あるいはろ過による捕捉によるものか明らかではなく、今後の検討課題である。

各処理水に対する藻類増殖試験においては、全般的に見てリンが藻類増殖に大きな影響を与えるのに対し、窒素の影響は比較的軽微であると考えられる。たとえば、各処理水が放流され湖水により1/10に希釈されたと想定した場合においても、2次処理水、窒素除去処理水ではなお数倍の富栄養化能力を有すると考えられるのに対し、リン除去処理水では添加率100%、すなわち無希釈でも増殖量は対照の数倍にとどまり、あまり大きな影響は与えないと考えられる。ただし、窒素化合物は自然界において細菌の働きにより種々の形態に変化するが、AGPの測定は一般に無菌状態での培養により評価を行なうため、完全に実際の水域を再現した状態での測定ではなく、窒素の富栄養化への影響についてもさらに検討を深める必要がある。

第4節 要約

本章においては、第2章で検討した簡易化した藻類増殖試験を用い、3次処理パイロットプラントの処理効果に関する検討を行なった。以下に検討の結果を列挙する。ただし、これらの内処理内容に関連した1), 2)については、これまで明らかにされた研究結果とほぼ同様の内容である。

- 1) 生物学的処理による硝化工程における $\text{NH}_4\text{-N}$ 減少速度は温度の影響を強く受け、 20°C においては 10°C の場合の約2倍、 30°C においては 20°C の場合の約2倍の値をそれぞれ示した。脱窒工程における脱窒率はメタノール添加率の影響を強く受け、メタノール添加量としてはMcCartyの示した値よりやや多い量が必要であると考えられる。
- 2) 物理化学的処理による凝集沈殿におけるリン除去率は Al/P のモル比の影響を受け、 Al/P が3以上で90%以上のリン除去率が得られる。また、活性炭処理によってCOD、リンともにきわめて低濃度にまで除去しうる。
- 3) 藻類増殖試験の結果から、2次処理水は富栄養化に大きな影響を与えると考えられる。
- 4) 3次処理においては、物理化学処理によるリン除去により藻類増殖の抑制に大きな効果が認められたが、生物学的処理による窒素除去では顕著な効果は認められなかった。ただし、無菌状態での培養による試験結果は実際の水域を完全に再現しているわけではなく、窒素に関しては今後さらに検討が必要である。
- 5) 硝化処理により藻類増殖量は2次処理水の場合よりやや小さくなったが、脱窒処理によりおおよそ1/2に減少し、窒素除去による効果が認められた。
- 6) 凝集沈殿処理により藻類増殖量は1/2~1/4に減少し、活性炭処理によりさらに1桁減少しており、その理由として、リンを再添加した試水による試験結果より、リン除去による効果が大きいことが明らかとなった。
- 7) リンが低濃度である場合は、藻類の最大増殖量と窒素濃度との相関は高かったが、

リンが過剰の場合、窒素濃度10~25 ppm以上において増殖への抑制効果が認められた。この抑制効果が窒素の直接的な作用によるものか、あるいは窒素以外の因子の作用によるものかについては明らかではない。

以上を要約すると次のようになる。パイロットプラントによる下水3次処理において、硝化工程では温度の影響、脱窒工程ではメタノール添加率の影響、凝集沈殿工程ではAL/Pのモル比の影響を最も強く受けるなど、これまでの研究成果とほぼ一致した。藻類増殖試験に関しては、2次処理水によるAGPは大きく富栄養化に大きな影響を与えると考えられ、3次処理によるAGPの減少ではリン除去による効果が顕著であり、窒素除去による効果はあまり大きくなかった。

参 考 文 献

- 1) E. P. Odum : Fundamentals of Ecology 3rd Ed., W. B. Sanders Company, London, 88 (1971)
- 2) R. N. Dawson and K. L. Murphy : The Temperature Dependancy of Biological Denitrification, Wat. Res., 6, 71 (1972)
- 3) C. A. Fewson and D. J. D. Nicholas : Utilization of Nitrate by Microorganisms, Nature, 190, 4770 (1961)
- 4) R. T. Hang and P. L. McCarty : Nitrification with Submerged Filters, J. W. P. C. F., 44, 2086 (1972)
- 5) A. L. Downing and G. Knowls : Population Dynamics in Biological Treatment Plants, 3rd Int. Conf. on Water. Poll. Res., II-7, Munich, Germany (1966)
- 6) 合田健: 富栄養化を目的とした下水処理, 用水と廃水, 15, 95 (1973)
- 7) Metcalf and Eddy Inc. : Wastewater Engineering, McGraw-Hill, New York, 638 (1972)
- 8) 遠矢泰典: 生物学的脱窒素法に関する研究 (I) - 硝化作用の支配因子に関する検討 -, 下水道協会誌, 7, (74), 21 (1970)
- 9) E. D. Schroeder and A. W. Busch : The Role of Nitrate Nitrogen in Bio-Oxidation, J. W. P. C. F., 40, R445 (1968)
- 10) 宮地有正, 杉本和雄: シ尿消化脱窒流の生物による窒素除去の検討, 下水道協会誌, 5, (55), 21 (1968)
- 11) W. K. Johnson and G. J. Schroeffer : Nitrogen Removal by Nitrification and Denitrification, J. W. P. C. F., 36, 1015 (1964)
- 12) A. F. Slechta and G. L. Culp : Water Reclamation Studies

- at the South Tahoe Public Utility District, J.W.P.C.F., 39, 787 (1967)
- 13) R.L. Sternberg et al. : New Approaches to Wastewater Treatment, Proc. ASCE, 95, No. SA6, 1121 (1968)
 - 14) E.F. Barth et al. : Chemical-Biological Control of Nitrogen and Phosphorus in Wastewater Effluent, J.W.P.C.F., 40, 2040 (1968)
 - 15) P.P. Amount and P.L. McCarty : Treatment of High Nitrate Waters, A.W.W.A., 61, 659 (1969)
 - 16) E.F. Barth : Design of Treatment Facilities for the Control of Nitrogenous Materials, Wat. Res., 6, 481 (1972)
 - 17) P.L. McCarty et al. : Biological Denitrification of Wastewaters by Addition of Organic Materials, Proc. of the 24th Indus. Waste Conf., Purdue Univ., Part II, 1271 (1969)
 - 18) H.D. Stensel et al. : Biological Kinetics of Suspended-Growth Denitrification, J.W.P.C.F., 45, 249 (1973)
 - 19) W.W. Eckenfelder and M.W. Tenney : Waste Water Treatment for Complete Nutrient Removal, Water and Sewage Works, 116, 396 (1969)
 - 20) 遠矢榮典 : 生物学的脱窒素法に関する研究(Ⅲ) — 活性汚泥の脱窒素機能および有機炭素源に関する検討 —, 下水道協会誌, 7, (76), 1 (1970)
 - 21) F. Pichinoty and L. D'Ornano : Sur le mechanisme de l'inhibition par l'oxygene de la denitrification bacterienne, Biochem. Biophys. Acta, 52, 386 (1961)
 - 22) J.P. Chang and J.E. Morris : Studies on the Utilization of Nitrate by *Micrococcus dinitrificans*, J. Gen.

Microbiol., 29, 301 (1962)

- 23) M.C. Mulbarger : Modifications of the Activated Sludge Process for Nitrification and Denitrification, Presented at 43rd Annu. Conf. of the Wat. Poll. Cont. Fed., Boston, Massachusetts.
- 24) S.F. Moore and E.D. Schroeder : An Investigation of the Effect of Residence Time on Anaerobic Bacterial Denitrification, Wat. Res., 4, 685 (1970)
- 25) K. Wuhrmann and K. Mechner : Uber den Einfluss von Sauerstoffspannung und Wasserstoffionen Konzentration des Milieus auf die mikrobielle Denitrifikation, Pathol. Microbiol., 28, 199 (1965)
- 26) W.W. Eckenfelder and S. Balakrishnam : Kinetics of Biological Nitrification and Denitrification, Report Centre for Research in Water Resources, University of Texas.
- 27) R.N. Damson and K.L. Murrhy : Factors Affecting Biological Denitrification of Wastewater, Presented at 6th Int. Conf. of Wat. Poll. Res., Session 15 Hall C No. 31 (1972)
- 28) H. Iwasaki : Studies on Denitrification IV. Participation of Cytochromes in the Denitrification, J. Biochem., 47, (2), 174 (1960)
- 29) H. Suzuki and H. Iwasaki : Studies on Denitrification VI. Preparations and Properties of Crystalline Blue Protein and Cryptocytochrome C, and Role of Copper in Denitrifying Bacterium, J. Biochem., 52, (3), 193 (1962)
- 30) H. Suzuki and T. Mori : Studies on Denitrification V. Purification of Denitrifying Enzyme by means of Electro-

- phoresis, J. Biochem., 52, (3), 190 (1962)
- 31) K. Wuhrmann: Nitrogen Removal in Sewage Treatment Process, Verh. Inter. Verein. Limnol., XV, 580 (1964)
 - 32) G. Knowles *et al.*: Determination of Kinetic Constants for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture with the Aid of an Electronic Computer, J. Gen. Microbiol., 38, 263 (1965)
 - 33) 遠矢泰典ほか: 窒素除去を目的とした新しい下水処理技術(I), 甲水と廃水, 15, 1058 (1973)
 - 34) 合田建編: 水質工学応用編, 丸善, 東京, 124 (1976)
 - 35) D. F. Bishop *et al.*: Single-Stage Nitrification-Denitrification, J.W.P.C.F., 48, 520 (1976)
 - 36) D. J. R. Dodd and D. H. Bone: Nitrate Reduction by Denitrifying Bacteria in Single and Two Stage Continuous Flow Reactors, Wat. Res., 9, 323 (1975)
 - 37) E. S. Savage and J. J. Chen: Operating Experiences with Columnar Denitrification, Wat. Res., 9, 751 (1975)
 - 38) W. J. Jewell and R. J. Cummings: Denitrification of Concentrated Nitrite Wastewaters, J.W.P.C.F., 47, 2281 (1975)
 - 39) T. R. Davis and W. A. Pretorius: Denitrification with a Bacterial Disc Unit, Wat. Res., 9, 459 (1975)
 - 40) C. Lue-Hing *et al.*: Biological Nitrification of Sludge Supernatant by Rotating Disks, J.W.P.C.F., 48, 25 (1976)
 - 41) R. L. Culp and G. L. Culp: Advanced Waste Treatment, Van Nostrand Reinhold Co., New York, 52 (1971)
 - 42) T. P. O'Farrell *et al.*: Nitrogen Removal by Ammonia

- Stripping, J.W.P.C.F., 44, 1527 (1972)
- 43) 三箇清治ほか:ゼオライトによる汚水中のアンモニア性窒素および重金属イオンの除去,下水道協会誌, 11, (116), 2 (1974)
- 44) B.W.Mercer et al.: Ammonia Removal from Secondary Effluents by Selective Ion Exchange, J.W.P.C.F., 42, R 95 (1970)
- 45) P.L. McCarty and P.P. St. Amat: Treatment of High Nitrate Waters, J. A.W.W.A., 61, 659 (1969)
- 46) 鈴木彰:逆浸透法の排水処理への応用について,用水と废水, 13, 58 (1971)
- 47) J.C. Lance: Nitrogen Removal by Soil Mechanisms, J. W.P.C.F., 44, 1353 (1972)
- 48) R.Owen: Removal of Phosphorus from Sewage Plant Effluent with Lime, Sawage and Industrial Waste, 25, 548 (1953)
- 49) L.A. Schmid and R.E. McKinney: Phosphate Removal by a Lime—Biological Treatment Scheme, J.W.P.C.F., 41, 1259 (1969)
- 50) 北尾高嶺(岩井重久編):下水废水ハンドブック,環境技術研究会,大阪, 604 (1974)
- 51) J. B. Nesbitt: Phosphorus Removal—the State of the Art, J.W.P.C.F., 41, 701 (1969)
- 52) M.R. Scalf et al.: Phosphate Removal at Baltimore, Maryland, Proc. A.S.C.E., 95, No. SA5, 817 (1969)
- 53) E.F. Barth and M.B. Ettinger: Mineral Controlled Phosphorus Removal in the Activated Sludge Process, J.W.P.C.F., 39, 1362 (1967)
- 54) N. Gangoli and G. Thodos: Phosphate Adsorption Studies,

- J.W.P.C.F., 45, 842 (1973)
- 55) E.J. Middlebrooks et al.: Biostimulation and Algal Growth Kinetics of Wastewater, J.W.P.C.F., 43, 454 (1971)
- 56) W.E. Miller and T.E. Maloney: Effects of Secondary and Tertiary Wastewater Effluents on Algal Growth in Lake-River System, J.W.P.C.F., 43, 2361 (1971)
- 57) T.E. Maloney et al.: Use of Algal Assays in Studying Eutrophication Problems, 6th Int. Wat. Poll. Res., c/3/6/1 (1972)
- 58) 須藤隆一ほか: 富栄養化に関する基礎的研究(オ1報)—汚濁水域における藻類の現存量と増殖速度, 昭和47年醗酵工学会講演集, 57 (1972)
- 59) 森忠洋ほか: 富栄養化に関する基礎的研究(オ2報)—生物処理水の生産力, 昭和47年醗酵工学会大会講演集, 58 (1972)
- 60) 森忠洋ほか: AGP法による富栄養化の評価, オ10回下水道研究発表会講演集 昭和48年度, 313 (1973)
- 61) 須藤隆一ほか: 富栄養化を評価するための藻類培養試験, オ13回下水道研究発表会講演集 昭和51年度, 518 (1976)
- 62) 岡田光正, 須藤隆一: AGPをめぐる諸問題, 用水と廃水, 20, 765 (1978)
- 63) 須藤隆一ほか: 都市下水の2次処理水が示す藻類生産の潜在能力, 下水道協会誌, 12, (6), 22 (1975)
- 64) 須藤隆一: 陸水域のモニタリング—富栄養化におよぼす排水の影響, 環境情報科学, 5, (2), 23 (1976)
- 65) 日本下水道協会: 下水試験方法, 東京 (1974)
- 66) APHA; AWWA, WPCF: Standard Methods, 13th Edition (1971)
- 67) C.N. Sawyer et al.: Presented at Design Seminar for Waste Treatment Facilities, Kansas City, Mo. (1971)

第4章 ウキクサを用いた富栄養化試験に関する 基礎的研究

第1節 概説

第2章、第3章において藻類培養試験に関する研究を行なってきたが、この富栄養化の重要な指標であるAGPの測定も現在のところ広範な分野の研究者、技術者に盛んに利用されているとはいえない。その大きな原因は生物学的な専門的手法が不可欠でありかつ顕微鏡的な植物である藻類を用いることから生じるさまざまな手法を必要とするからに他ならない。

生物を用いた富栄養化試験を行なう限り生物学上の手法は避け得ないが、藻類を用いることによる接種、植え継ぎ、測定法などの手法をできるだけ簡略化あるいは省略し、さらに富栄養化試験を広範な分野においても利用できるように検討を重ねた結果、指標生物としてウキクサを用いることによりこれらの目的が達成できる可能性が大きいことが明らかとなった。ウキクサは水生植物のうち浮葉植物と呼ばれ、顕花植物でありながら微生物のどと無性分裂により増殖するという特異な性質を有し、さまざまな栄養塩レベルの水域において見ることができ、肉眼的植物であるため藻類を用いることによるさまざまな実験手法を省くことが可能となる。

本章においてはウキクサを用いた富栄養化試験に関する基礎的な研究を行なった。つまり培養方法においては栄養塩、培養条件、重金属などに関する検討、ウキクサ現存量の測定法の検討、増殖モデルの検討などである。これらの研究により明らかとなった基礎的事項は、ウキクサを用いた富栄養化試験の泉用化に重要な役割を果たすであろう。

第2節 ウキクサおよびウキクサ培養試験に関する

文献的考察

ウキクサは植物学上その生活様式、増殖方法などにおいて特異な位置を占め、藻類などと比べると生態学的にも重視されておらず、分類学上においてもまだ未知な部分もあり、全般的に十分の研究がなされているとはいえない。そこでこれまで行なわれてきたウキクサに関する研究について文献的考察を行ない、さらにウキクサを用いた培養試験に関して考察を行なう。

2-1 水生植物

藻類などを主とする微小な水中生物を総称してプランクトンと呼んでいるのに対し、水生の肉眼的な植物を一般的に水生植物あるいは水草と呼んでいる。ただしこれには分類学的な根拠はなく、その主なものは水生維管束植物すなわち水生茎葉植物であり、顕花植物のほか、シダ植物や輻軸藻類などの隠花植物が含まれる。ウキクサもやはり開花、結実する顕花植物に属す。日本における水生維管束植物は25科、46属、119種、6変種、10雑種と言われている。¹⁾ 水生植物をその生活形により分類すると、表-4-1のようになる。²⁾

ウキクサをはじめとする浮漂水生植物は非常に特異な生活形を有するものであるが、それは、組織学的にも裏づけられる。つまり一般には葉とされているウキクサの葉状体は他の維管束植物の葉とは異った特徴を有している。ウキクサの1種である *Spirodela polyrhiza* における葉状体の断面を図-4-1に示す。³⁾ 図-4-1に見られるごとく、気胞は上部表皮（棚状組織側）に約170/μm²存在し、海綿状組織では細胞間空隙が非常に発達しており、ブイの役目を果している。

水生植物は湖沼などの食物連鎖や物質循環に占める割合が植物プランクトンなどと比べると低いことなどもあり、生態学的な研究が活発になされてきたとはいえない。しかし最近の富栄養化現象の解明における植物プランクトンとの関係などにおいて次第にその重要性が認識され始めているのが現状である。

2-2 ウキクサの分類学

一般にウキクサと呼ばれているのは *Lemnaceae* (ウキクサ科) であり、これは植物分類学上、

SPERMATOPHYTA	種子植物門
ANGIOSPERMAE	被子植物(聖門)
NONCOTYLEDONEAE	单子葉類(細)
<i>Spathiflorae</i>	サトイモ目

に属している。

ウキクサ科 *Lemnaceae* には *Wolffia*, *Wolffiella*, *Lemna*, *Spirodela* の4属があり、世界各地に約20種が分布している。ウキクサ科の植物は一般に植物体は小さく、一年生で粒状または盤状の緑色の葉状体をなし、水面に浮遊するものは水中に生える。根はあるかまたはなく、体の側方から芽を出し繁殖する。冬には休眠芽を作り水底に沈む。雌雄は同株で花は単性であり、1〜数個の雄蕊⁴⁾があり、雌花は1個の雌蕊⁵⁾だけからなる。鳥の足などによりはるばる世界中に広く分布している。⁴⁾ 日本では、*Wolffiella* を除く、次に示す3属7種の報告⁵⁾されている。

1. <i>Wolffia arrhiza</i> WIMMER	ミジンコウキクサ
2. <i>Lemna trisulca</i> L.	ヒンジモ
3. <i>Lemna paucicostata</i> HEGELN	アオウキクサ
4. <i>Lemna minor</i> L.	ユウキクサ
5. <i>Lemna minima</i> PHILIPPI	ヒナウキクサ
6. <i>Spirodela polyrhiza</i> SCHLEIDEN	ウキクサ
7. <i>Spirodela oligorhiza</i> HEGELN	ヒメウキクサ

これらのうち、もっとも身近に見られるものは、*Lemna paucicostata* アオウキクサ、*Spirodela polyrhiza* ウキクサ、*Lemna trisulca* ヒンジモである。*Lemna paucicostata* アオウキクサは本論において用いた種であるが、その体

は黄緑色の扁平な茎で葉はなく、卵形状の楕円形で長さ2~3.5mm、表面には主脈があり葉面中央から1条の長い糸状根を垂らすのが特徴であるが、根には維管束はなく、先端には鋭尖頭の根冠を有している。⁶⁾ この一種に *L. minor* (コウキフサ) のみヨーロッパなどに広く分布している。*Spirodela polyrhiza* ウキクサは長さ5~8mmの倒卵形で中央以下に軽くびれがあり、3~4個集まって水面に浮び、葉面は紫色で中央から5~11本の根を出す。⁷⁾ *Lemna trisulca* ヒンジモは三角状倒卵形で長さ7~10mm、基部は矢じり形となっている。3~10mmの細長い柄により互に連絡し、時に大群体を作る。*L. paucicostata* および *S. polyrhiza* を図-4-2、図-4-3に示す。

なお本論文においては、実験に使用した *L. paucicostata* アオウキクサまたはウキクサ科の総称として「ウキクサ」という言葉を使用することとする。

ウキクサ科の分類は Hegelmaier によつておおむねなされたが、⁸⁾ 進化上は *Araceae* サトイモ科より分化したと考えられている。⁹⁾ ただし、分類の種のレベルにおいては、現在でも確定的ではなく、さまざまな検討が加えられている。¹⁰⁾ たとえば、ヨーロッパにおいては *L. minor* および *L. gibba* が広く分布しており、*L. gibba* は葉状体の凸面性にその特徴があるが、時には *L. minor* と同様の平面状となり、その差異が明確ではない。ウキクサはカロチノイドや第2テルペンなどは合成しないが、フラボノイドを合成する点に注目し、¹¹⁾ 薄層クロマトなどを用いた化学的な比較や、^{12)~15)} 染色体数による細胞学的な検討¹⁶⁾ がなされた。また形態学的な比較や¹⁷⁾ 増殖力など生態学的検討¹⁸⁾ などさまざまな検討が加えられ、また総合的な検討が行なわれている。^{19) 20)}

ウキクサ科は寒冷地を除くほぼ世界中に分布している。*L. gibba* および *L. minor* の分布状況を図-4-4、図-4-5に示す。²¹⁾ また *L. paucicostata* を含む *L. perpusilla* の分布を染色体数とともに図-4-6に示す。¹⁶⁾

2-3 ウキクサ培養実験

ウキクサを実験材料とし、栄養塩の影響などについて検討を加え、研究は古くから行なわれているが、その多くは生理学的な目的によるものであって、たとえば微量元素の影響などに関して行なわれている。^{22) 23)} また無機栄養塩、光、温度などの生長要因の影響に

関しても研究がなされているが、その多くは *L. minor* を用いている。^{29)~29)}

(1) 培地

ウキワサの培養に用いられる培地は藻類の場合ほとんどの種類は多くないが、研究者によりさまざまな工夫がなされている。*Lemna* 属、*Spirodela* 属に用いられる培地を表-4-2に示す。³⁰⁾ また培地に糖類を加えウキワサの増殖率を高める場合もある。³¹⁾

(2) 照度

ウキワサの生長と光の強さとの関係は古くから研究されているが、³²⁾ 生長曲線を指数関数として解析したものが多い。*Lemna* 属では、一般に約 8000 ~ 15000 lux で飽和となると報告されている。^{33) 34)}

(3) 温度

植物学の分野における、植物と温度とに関する研究は膨大な数にのぼるが、ウキワサに關してもいくつかの研究がなされている。

Landolt ³⁵⁾ による *L. minor* を用いた実験では照度 2500 lux、1日16時間照射において、最高致死温度は 27 ~ 32 °C、最低致死温度は 10 °C 以下、最適温度は 26 °C 付近であった。ただし温度の影響は照度に依存しており、相互作用に注意する必要がある。³⁶⁾ 図-4-7 に3種の照度において、比増殖速度に対する温度の影響を示す。³⁷⁾ 図-4-7 では、23 °C よりも 29 °C における比増殖速度が大きな値を示している。

(4) 栄養塩

ウキワサは土に依存せず完全に培地のみにより培養でき、培地中の各種物質の濃度にもよく反応するので、高等植物の栄養生理の研究に多く用いられてきた。^{38) 39) 40)}

窒素との関係においては、ウキワサは無機態だけでなくさまざまな窒素を利用でき、アンモニウム塩や硝酸塩の添加で増殖数が増し、窒素と鉄の不足によりフロアフィルの減少するなどが明らかとなっている。^{41)~44)}

またキレート剤 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) や EDDHA

(ethylenediamine - di - o - hydroxyphenylacetic acid) などが開花や葉状体の凸面性に与える影響について検討され^{(55)~(59)}、これが *L. gibba* と *L. minor* の分類などにも応用されている。⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾ EDDHA によるウキワサの凸面性、開花、増殖速度への影響を図-4-8に示す。⁽⁵²⁾ これらの影響は、銅などのキレート化によるものと推定する研究者もいる。⁽⁵³⁾

日本におけるウキワサ培養に関する研究の数も少ない。吉村は栄養塩とくに微量物質の生理的研究を行ない、^{(54)~(57)} 王嶋はウキワサの生長と環境因子との詳細な研究を行なっている。⁽³⁰⁾

第3節 研究目的

第1節概説においても述べたごとくAGPの測定が現在においても広範に用いられていない原因として、生物学的な専門的手法を要することがあげられる。第2章、第3章においては藻類増殖試験法の簡易化に関する研究を行なったが、この簡易法においても顕微鏡的生物である藻類を用いることから生じる手法の繁雑さを避けることはできない。そこで指標生物として藻類以外の植物を用いることを検討し、まず、浮葉植物を用いることの可能性について検討を加えた。浮葉植物などの肉眼的な植物を指標生物として用いれば、顕微鏡その他の手法が不要となり手法的には非常に簡易化されるわけであるが、水質を正確に反映するか、十分な精度が得られるかなどが問題となる。

排水処理などの分野で一般に比較よく利用されている浮葉植物として、ウキクサとホテイアオイとをあげることができるが、大型の浮葉植物であるホテイアオイを指標生物として用いた場合、増殖速度、実験装置のサイズ、精度などの点で問題が多いと考えられる。これに対し、ウキクサの場合は比較的大きな増殖速度を有し、必要とする実験装置のサイズも適当であろうと推定され、また十分な精度が得られる可能性を有している。ウキクサは顕花植物でありながら微生物のように無性分裂により増殖するという特異な性質を有し、さまざまな栄養塩レベルの水域において繁殖できるという利点を有している。

さらに、低栄養塩レベルの試水において一般的な方法より精度を上げる、あるいはより低栄養塩レベルの試水の判定を行なう必要を生じた場合、ウキクサを用いることは次のような利点を有していると考えられる。

まず第1に、バッチ培養における培養液を増加した場合、吸光度による藻類量の測定においては藻類濃度に変化はないため精度を上げることはできないが、ウキクサの計数などによる測定においては、培養液量の増加に伴い計数されるウキクサの全数も増えることにより精度を上げることが可能であると推定される。

第2に連続培養法を用いた場合、ウキクサにおいては培養液のみ流入、流出させウキクサは培養容器内に残るような装置を藻類の場合より比較的容易につくることができ、大量の培養液の蓄積的な効果により精度を上げることが可能であると推定される。

ウキクサを指標生物として富栄養化試験を行なうことの可否に対する評価は、水質特に

窒素、リン濃度やAGPとの関係においてなされなければならないが、源泉の自然水など複雑な因子を含む試水を対象とした場合、水質においては未知の増殖刺激物質などによる影響の可能性があり、AGPにおいては藻類種による評価の差異などの不確定な要因があり、ウキワサを用いることの可否を単純には評価できない。

したがって、本章においては合成培地を用いてウキワサ培養試験を行ない、基礎的な検討を行なった。すなわち、培地、植え付け、栄養塩、培養条件、阻害物質の代表例として重金属の影響に関する検討、ウキワサ現存量の測定法の検討、増殖モデルの検討などである。

第4節 ウキクサの培養試験に関する基礎的研究

富栄養化試験の指標生物としてウキクサを用いるための基礎的な検討を合成培地を用いて行なった。藻類を用いるウキクサを用いることにより試験方法を非常に簡易化しうることなどさまざまな利点が予想される。

実験項目を以下に示す。

〔1〕 培地に関する実験

(1) No.1 基本培地に関する実験

(2) No.2 pHに関する実験

〔2〕 植え付けに関する実験

(1) No.3 前培養期間に関する実験

(2) No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験

〔3〕 栄養塩濃度に関する実験

(1) No.5 リン濃度に関する実験

(2) No.6 窒素濃度に関する実験

〔4〕 培養条件に関する実験

(1) No.7 温度に関する実験

(2) No.8 照度に関する実験

(3) No.9 培地容量に関する実験

〔5〕 重金属の影響に関する実験

(1) No.10 カドミウムの濃度に関する実験

(2) No.11 銅の濃度に関する実験

(3) No.12 鉛の濃度に関する実験

(4) No.13 鉄の濃度に関する実験

4-1 実験方法

本章におけるウキワサ培養実験に関して、まずいずれの研究項目においても用いられる一般的な実験方法について述べ、次に各研究項目ごとの実験方法について述べる。

4-1-1 一般的な実験方法

(1) ウキワサ

培養試験に用いたウキワサの種類は *Lemna paucicostata* 6746 アオウキワサであり、日本において一般によく見られる種である。実験に用いた *L. paucicostata* は京都大学農学部農林生物学科応用植物研究室より分株したものである。

普通、ウキワサの葉と見られている部分の形態学的には茎であり、葉状体 (frond) と呼ばれる。母葉状体 (mother frond) の分裂組織から新しい娘葉状体 (daughter frond) が出身し、数個の葉状体が結合した1植物体 (plant) を形成するが、さらに葉状体が増加すると2つの植物体に分裂する。1植物体における葉状体数は、その種類、環境条件により変化するが、2〜5個が普通である。図-4-9にウキワサの増殖を模式的に示す。

(2) 培地

予備実験において数種のウキワサ用培地により *L. paucicostata* を培養し、その葉状体の増殖数や色の状態の比較を行ない、培地組成としてはオートクレーブ処理を行なうため窒素源としてはアンモニウム塩より硝酸塩の方が望ましいなどを考慮し、最も適した培地として Modified Hoagland 培地を選んだ。表-4-3に Modified Hoagland 培地の組成を示す。ただし、培地の保存の都合上 tartaric acid は除外した。この tartaric acid を除外した Modified Hoagland 培地を MH 培地と略記し、基本培地と呼ぶ。また、後に述べる実験において MH 培地を8倍に希釈した培地におけるウキワサの増殖が最もよいことが明らかとなったため、この培地を 1/8 MH 培地と略記し、本章の実験に用いる標準的な培地とした。

(3) 培養方法

100 ml エrlenmeyer フラスコに試水を 50 ml 入れ、フラスコの口には、2重のアルミ箔または小型のビーカーを被せ、細菌の混入を防いだ。試水を入れたフラスコは、12℃、15分間のオートフレーブ処理を行ない、冷却後、無菌培養したウキワサを植え付けた。植え付けるためのウキワサは、1/8 M² 培地に植え継いだ後約 10 日間のものを用い、滅菌水で洗淨したものを用いた。植え付け数は 1~3 植物体 (3~9 葉状体) とした。培養期間は 2 週間としたが、実験により 20~30 日間としたものもある。

(4) 培養条件

培養は 25±1℃ に温度調節した水を循環させたプラスチック製バット内の静置によるバッチ培養とした。光源には 20 W 昼光色蛍光灯を用い、24 時間連続照明とし、照度は、約 8000 lux とした。蛍光灯の種類の違いについては実験を行なっていないが図-4-10 に示すごとく、青緑色の補色である赤色のエネルギーは白色蛍光灯より昼光色蛍光灯の方が大きいのでより効果的であろうと判断し、昼光色蛍光灯を用いた。フラスコを入れたバットの底には悪影響を与えると思われる反射光を防ぐため黒い紙を張った。また温度、照度の影響を平均化するため、葉状体数測定時にフラスコの位置をローテーションさせた。実験装置を図-4-11 に示す。

(5) 増殖量の測定

ウキワサの生長量として原則として 2 日ごとに葉状体数を測定した。葉状体数は大きさにかかわらず確認できれば 1 葉状体として測定した。2 日ごとの各葉状体測定値から最初の植え付け数を差し引いた値を葉状体増殖数 F とした。1 試料は同一条件の 3 個または 5 個のフラスコで培養し、それらの平均値を測定値とした。

いくつかの実験においては培養終了後ウキワサの湿潤重量、葉状体面積、葉状体の長さを測定した。湿潤重量においてはウキワサをろ紙により水を切り、30 分後にその重量を測定した。葉状体面積は、上方から撮影したウキワサの写真のネガフィルムを製版フィルム (透明なフィルム) により数倍に拡大し、自動面積計 (AAM-7 型 林電工株式会社) により測定した。葉状体の長さの測定はウキワサの写真において葉状体の長径をノギスに

より測定し、同時に測定したメジャーにより補正を行なう方法により行なった。ウキクサ葉状体の形を楕円形とみなし、長径 a と短径 b との比率を写真より測定し平均的な値として $b = 0.628a$ を得た。したがって

$$S = \frac{\pi}{4} ab = \frac{0.628}{4} \pi a^2$$

より楕円形の面積を求め、1枚の葉状体の面積の近似値とする方法も用いた。

4-1-2 各研究項目の実験方法

〔1〕 培地に関する実験

(1) No.1 基本培地に関する実験

MH培地を1, 2, 4, 8, 16, 32倍にそれぞれ希釈した培地により培養を行なった。培養期間は12日間である。この実験により、*L. paucicostata* の最適な栄養塩レベルを決定し、植え継ぎなどの標準培地として用いる。

(2) No.2 pHに関する実験

1/8MH培地に対し、酸性側では H_2SO_4 、アルカリ側では KOH を添加し、pHを、2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 9.0, 10.1, 11.0, 11.9に調整し培養を行なった。培養期間は16日間である。pH6.0~8.0 においてはウキクサの増殖に影響を与えないことが文献的に明らかのため設定条件から除外した。

〔2〕 植え付けに関する実験

(1) No.3 前培養期間に関する実験

培養試験に使用するウキクサは1/8MH培地により約10日間前培養を行ない、植え付けに必要な数に増殖したできるだけ均一なウキクサを使用した。この前培養の期間が

培養試験結果に影響をおよぼす可能性があるため、これに関する実験を行なった。

実験は1/8MH培地による前培養期間を8, 11, 14, 18, 24日間としたウキリサを1/800MH培地により培養し、15日後の葉状体増殖数により検討した。前培養は3葉状体(1植物体)の植え付けにより、各前培養期間の試料はそれぞれ3個のフラスコでの培養により行なった。1/800MH培地による本培養は9葉状体(3植物体)の植え付けにより、各試料につきそれぞれ5個のフラスコでの培養を行なった。

(2) No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験

生物を用いた実験においては理化学的な実験に比べそのデータの誤差が大きいのが常である。このような場合、統計学的な処理を行なう必要があり、ウキリサ葉状体増殖数の分布状態を適確に把握する必要がある。また、この実験結果に基づき、1試料を同一条件で培養するのに必要なフラスコの数に関して統計学的な検討を行なう。

実験は1/800MH培地および1/8MH培地を用い、同一条件で培養を行ない、14日目における葉状体増殖数 \bar{X} を測定し、 \bar{X} の分布が正規分布とみなせるかどうかの検討を行なった。1/800MH培地の場合、試料数は22個、それぞれの植え付け葉状体数は9(3植物体)とし、1/8MH培地の場合、試料数は24個、それぞれの植え付け葉状体数は3(1植物体)とした。

[3] 栄養塩濃度に関する実験

(1) No.5 リンの濃度に関する実験

1/8MH培地においてリン濃度のみ、0, 1/1000, 1/200, 1/100, 1/20, 1/10, 1/2, 1, 2, 10, 40倍とした培地により培養を行なった。本実験においては葉状体数が完全に一定となるまで培養を行ない、培養期間は30日間とした。

(2) No.6 窒素の濃度に関する実験

1/8MH培地において窒素濃度のみ1/10000, 1/1000, 1/100, 1/10, 1倍とした培地により培養を行なった。培養期間は4日間とした。

[4] 培養条件に関する実験

(1) No.7 温度に関する実験

培養フラスコを静置しているバット内へ温度設定のため循環している水の温度を15, 20, 25, 30℃とし、培養を行なった。培地には1/8MH培地を用い、培養期間は3日間とした。

(2) No.8 照度に関する実験

蛍光灯と培養フラスコとの距離を変化させ、照度を0, 500, 1000, 3000, 5000, 8000, 10000, 12000 luxとし培養を行なった。培地には1/8MH培地を用い、培養温度は 20 ± 1 ℃とした。培養期間は3日間である。

(3) No.9 培地容量に関する実験

1/800MH培地の容量を1000, 140, 20 mlとし、培養を行なった。培養容器は、それぞれ1000 ml, 200 ml, 50 mlのフラスコを用いた。培養期間は14日間とした。

[5] 重金属の影響に関する実験

ウキフサを用いた富栄養化試験の実用化において工場排水などを対象とする場合、増殖を刺激する物質以外に増殖を阻害する物質を含む場合も十分考えられる。そのような場合には水質の判定を誤るおそれが生じる。そこで阻害物質として重金属類をとりあげ、人の健康に係わる環境基準の本質項目として、カドミウム、銅、鉛を、また金属の中では阻害より増殖刺激作用を持つ可能性のある鉄を対象として、ウキフサへの影響について検討を行なった。これらの実験においてはpHの影響をさけるため培地はpH 4~8に調整した。

(1) No.10 カドミウムの濃度に関する実験

1/8MH培地に対し、 CdSO_4 を添加し、Cd濃度を0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 ppmとした培地により培養を行なった。

(2) No.11 鉛の濃度に関する実験

1/8MH培地に対し、 $PbCl_2$ を添加し、 Pb 濃度を0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 ppmとした培地により培養を行った。

(3) No.12 銅の濃度に関する実験

1/8MH培地に対し、 $CuSO_4$ を添加し、 Cu 濃度を0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 ppmとした培地により培養を行った。

(4) No.13 鉄の濃度に関する実験

1/8MH培地における $FeCl_3$ 濃度を、0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 ppmとした培地により培養を行った。本実験においては同一試料を5個のフラスコにより培養を行った。

以上の実験の設定因子、培養日数、培養条件などを表-4-4に一括して示す。

4-2 実験結果および考察

本章の各実験の結果および考察、ウキワサ現存量の測定法に関する考察、ロジスティック曲線による評価などについて以下に述べる。

4-2-1 各実験結果および考察

(1) 培地に関する実験

(1) No.1 基本培地に関する実験

MH培地を5段階に希釈しウキワサの培養を行ない、その増殖数について検討した。12日目における葉状体増殖数と希釈倍率との関係を図-4-12に示す。図-4-12に

おいてFは8倍希釈の場合に最大となっており、それより希釈倍率が低い場合には、過剰な栄養塩がウキワサの増殖に抑制的に作用していると考えられる。また8倍希釈より高い希釈倍率においては直線的にFが減少しており、制限となる栄養塩の濃度に依存していると考えられる。8倍希釈MH培地中の窒素濃度、リン濃度はそれぞれ43.8 ppm, 19.4 ppmであり、富栄養化した自然水における濃度レベルと比較しても $10^2 \sim 10^3$ 倍のオーダの濃度である。

今後、1/8MH培地を植え継ぎ用、保存用、対照用などの標準的な培地として使用する。

(2) No.2 pHに関する実験

1/8MH培地のpHを8種類に設定しウキワサの培養を行ない、その増殖数について検討した。

培養16日目における葉状体増殖数FとpHとの関係を表-4-5に示す。pH2.0, 3.0においては全く増殖せず、pH9以上においてはオートクレーブ処理により沈殿を生じたとなどにより非常に増殖が抑制されており、ウキワサの培養に適したpHの範囲は4~8程度と考えられる。

〔2〕 植え付けに関する実験

(1) No.3 前培養期間に関する実験

植え付けのための前培養期間を変化させ、本培養における葉状体増殖数への影響について考察した。

培養15日目の葉状体増殖数Fと前培養期間との関係を表-4-6に示す。表-4-6においては前培養11日目に植え付けた場合に最大のFとなっており、さらに前培養期間が増すに従いFの値は減少している。一般に前培養7~10日目頃に植え付け可能な数に達するケースが多いため、前培養の標準的な期間を10日間とすることとした。

(2) No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験

同一条件の20数個のフラスコにより培養を行ない、葉状体増殖数の分布状態について検討し、さらに同一条件のいくつかのフラスコで培養を行なうのが適当かについて統計学的な検討を行なった。

1) 葉状体増殖数の分布に関する実験

培養14日目の葉状体増殖数 F の分布は、1/800MH培地の場合、平均値 \bar{x} は33.0、標準偏差 σ は7.34であり、1/8MHの場合、平均値 \bar{x} は97.5、標準偏差 σ は21.5であり、 F の葉状体増殖数 F の分布が正規分布とみよせらるかどうかの検討を行なった。

正規分布かどうかの検定には、直接理論的分布関係を計算によりあてはめる方法と確率紙を利用した簡略検定法とが行なわれているが、ここでは確率紙利用による検定を行なった。対数確率紙における非超過確率分布関数 F_i には次の3種がよく用いられ、それを利用することとする。^{58) 59)}

1) 第1の方法

$$F_i = \frac{N+1-i}{N}$$

ただし $i=1$ の時

$$F_1 = 1$$

、 $i=N$ の時

$$F_N = \frac{1}{N}$$

2) Thomas plot法

$$F_i = \frac{N+1-i}{N+1}$$

3) Hazen plot法

$$F_i = \frac{2N-2i+1}{2N}$$

ることで、これは N 個のデータを大きい順に並べたときの大きい方からの順番である。

1/8MH培地の実験結果をThomas plotを用い図-4-13に示す。図-4-13においてプロットはほぼ直線性を示しており、葉状体増殖数の分布はほぼ正規分布とみなしうる。1/800MH培地においては、1/8MH培地よりさらに良い直線性を示した。

これらの結果より、葉状体増殖数の分布はほぼ正規分布とみなしうるということが明らかとなった。

6) 標本数に関する統計的考察

生物を用いた実験においては、物理、化学的な実験に比べそのデータの誤差が大きいのが常である。これは生物という非常に複雑な1つの系を含むことから生ずるものであり、ある程度まで避けることはできないものと考えられる。また生物が高等になるほど個体差なども問題となるであろう。実験に使用した藻類とウキクサとを比較しても、実験開始時の個体数は藻類の場合1試料当り10000個であるのに対し、ウキクサの場合普通1試料当り3植物体(9葉状体)であり、ウキクサを用いた実験においては個体差による誤差は藻類の場合より非常に大きいものと考えられる。a) 葉状体増殖数の分布に関する実験結果よりその分布はほぼ正規分布とみなせることが明らかとなったが、これを基礎とし必要の標本数に関する考察を行なった。

平均 μ 、分散 σ^2 の N 個からなる母集団より非復元単純ランダムに n 個の標本をとりだし、 \bar{x} とする。標本の平均値 \bar{x} は μ の不偏推定量であり、その分散は

$$V(\bar{x}) = \frac{N-n}{N-1} \cdot \frac{\sigma^2}{n} \quad (4-1)$$

となる。標本数 n が十分大きくかつ N に比べて十分小さい場合、 \bar{x} は平均 μ 、分散 $V(\bar{x})$ の正規分布 $N(\mu, V(\bar{x}))$ で表わされ、 μ の95%信頼区間は近似的に

$$(\bar{x} - 2\sqrt{V(\bar{x})}, \quad \bar{x} + 2\sqrt{V(\bar{x})})$$

で表わされる。

2) の信頼区間の片や $2\sqrt{V(\bar{x})}$ を推定の精度と考えると推定の相対精度は

$$\alpha = 2\sqrt{V(\bar{x})} / |\mu| \quad (4-2)$$

と表わされる。

2) の相対精度 α の値をある値 δ 以下になるように標本数 n を決定することが出来る。普通の値は $0.01 \sim 0.1$ の間にとり、それほど精密な推定を要しないときは $0.1 \sim 0.3$ の間にとることもある。

したがって $\alpha \leq \delta$ である。

$$2\sqrt{V(\bar{x})} / |\mu| \leq \delta \quad (4-3)$$

(4-1) 式より

$$n \geq \left[\left(\frac{\delta}{2C} \right)^2 \left(1 - \frac{1}{N} \right) + \frac{1}{N} \right]^{-1} \quad (4-4)$$

ただし、 C : 母変異係数 $C = \sigma / \mu$ である。母集団が十分大きくれば

$$n \geq \left(\frac{2C}{\delta} \right)^2 \quad (4-5)$$

となる。

ただし、以上は信頼係数を $1 - \alpha = 0.95$ とした場合であるが、一般には (4-4) 式、(4-5) 式における C の係数 2 を t_{α} と可いはず。ただし、 t_{α} は

$$\int_{-t_{\alpha}}^{t_{\alpha}} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2}} dx = 1 - \alpha \quad (4-6)$$

を満足する値である。⁶⁰⁾

Q) 葉状体数の分布に関する実験結果を用い標本数の検討を行なった。1/800MH 培地の場合、1/8MH 培地の場合とも $C = 0.22$ となった。これを (4-5) 式に代入し、信頼係数 95% における n と $1 - \delta$ の関係を図-4-14 に示す。図-4-14 において、

標本数 n が大きくなるほど相対精度を小さくできることがわかるが、実験手法の制約からできるだけ少ない標本数にすることが望ましい。 $\delta = 0.1$ とするとおおよそ $n = 20$ となり実験手法上非常に困難であり、 $\delta = 0.2$ では $n = 5$ 、 $\delta = 0.25$ で $n = 3$ となる。また n を5以上としても精度はそれほど良くはならない。したがってウキフサ培養試験では、1試料を同一条件の3個あるいは5個のフラスコで培養することとした。

〔3〕 栄養塩濃度に関する実験

(1) No. 5 リンの濃度に関する実験

30日の培養期間における葉状体増殖数 F の最大値と1/8MH培地に対するリン濃度の比率との関係を図-4-15に示す。図-4-15において、 F は1/8MH培地に含まれるリン濃度より低い濃度範囲において、リン濃度の対数にほぼ直線的に比例しており、1/8MH培地において最大となり、それより高い濃度範囲において急激に減少している。1/8MH培地のリン濃度が19.4 ppm であることを考慮すると、他の栄養塩が十分に存在する場合、ウキフサの培養により0.01 ppm のオーダーから10 ppm のオーダーまでのリン濃度の検出が可能であると考えられる。また、10 ppm のオーダー以上のP濃度は抑制的に作用するものと考えられる。

(2) No. 6 窒素の濃度に関する実験

培養14日目の葉状体増殖数 F と、1/8MH培地に対する窒素濃度の比率との関係を、図-4-16に示す。窒素濃度が1/8MH培地の1/1000倍以下の濃度において、 F はあまり増加していないが、1/100～1/10倍の濃度においては急激に増加し、1/10倍の濃度において最大となり、1/8MH培地においては減少している。1/8MH培地の窒素濃度が43.8 ppm であることを考慮すると、他の栄養塩が十分に存在する場合、ウキフサの培養試験により0.01 ppm のオーダーから数 ppm のオーダーの窒素濃度の検出が可能だと考えられる。

〔4〕 培養条件に関する実験

(1) No. 7 温度に関する実験

培養温度と13日目の葉状体増殖数 F との関係を図-4-17に示す。図-4-17において、 15°C と 20°C とにおいては F に差が認められないが、 20°C 以上において F はほぼ直線的に増加している。

葉状体の現存数を G で表わすとする。

$$F = G - G_0 \quad (4-7)$$

G_0 : 植え付けの葉状体数

と作る。

$$\frac{dG}{dt} = \mu G \quad (4-8)$$

を仮定し積分すると

$$\mu = \frac{\ln G t_2 - \ln G t_1}{t_2 - t_1} \quad (4-9)$$

μ : 比増殖速度 ($1/\text{day}$)

$G t_1$: 時刻 t_1 における G

$G t_2$: 時刻 t_2 における G

を求めるとができる。

培養期間中の μ の最大値 μ_m を表-4-7に示す。最大比増殖速度 μ_m は培養温度に従って増加している。温度設定が密でないため詳細な検討は行なえないが、これまでの研究結果を考慮すれば、ほぼ $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ において最大の増殖を示し、 30°C 以上では増殖が抑制されると考えられる。実用上もあまり高温は好ましくなく、培養温度としては $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ 程度が適当と考えられる。

(2) No. 8 照度に関する実験

照度と13日目における葉状体増殖数 F との関係を図-4-18に示す。図-4-18においては、照度 3000 lux 以下の範囲では、 F は照度の変化に対して急激に変化し、 3000

lux 以上では明らかに増加し、10000 lux 以上ではあまり下に差が認められない。 μm と照度との関係を図-4-19に示す。図-4-19において、5000 lux 以上では μm はほぼ一定の値を示している。

したがってウキクサ培養実験における照度としては5000 lux 以上が望ましく、実験装置上の制約からは10000 lux 以下が適当であると考えられる。

(3) No. 9 培地容量に関する実験

培地容量と14日目における葉状体増殖数 F との関係を表-4-8に示す。表-4-8において F には明らかに培地容量による違いが認められる。その原因として単なる物理的な要因とせばウキクサの根が広がる培地表面積の違いや、ウキクサ間の距離の違いなどは考えられず、栄養塩濃度の変化の違いやウキクサからの有害な代謝物の蓄積などが考えられる。つまり大容量の培地においては、ウキクサの摂取あるいは吸収による栄養塩の濃度変化が小さく、代謝物の濃度も希釈され低濃度となるのに対し、小容量の培地においてはそれらの効果が大きく現われたものと考えられる。これらの結果より、バッチ培養においては有意な差が検出しにくい低濃度の試料においても常に新しい試料をウキクサに供給すれば有意な差を検出できる可能性があり、連続培養や半連続培養の有効性が示唆される。

[3] 重金属の影響に関する実験

(1) No. 10 カドミウムの濃度に関する実験

培養14日目の葉状体増殖数 F とカドミウム濃度との関係を図-4-20に示す。図-4-20において F は、0.001, 0.01 ppm においてはほぼ対照と同レベルの値となっているが、0.1 ppm において0.001, 0.01 ppm の場合の1/3以下に減少し、1, 10 ppm においてウキクサは死滅した。1, 10 ppm におけるpHはそれぞれ4.9, 4.8であり、死滅の原因としてpHは考えられず、カドミウムの毒性作用によるものと考えられる。

(2) No. 11 銅の濃度に関する実験

培養14日目の葉状体増殖数 F と銅濃度の関係を図-4-20中に示す。銅の場合もカドミ

ウムと同様の傾向を示しており、10, 1 ppmにおいてウキワサは死滅した。10 および 1 ppmにおける pH はそれぞれ 4.63, 4.90 であり、ウキワサの死滅した原因は銅の毒性作用のためと考えられる。

(3) No. 12 鉛の濃度に関する実験

培養14日目における葉状体増殖数Fと鉛濃度の関係を図-4-20中に示す。鉛の場合はカドミウム、銅の場合と異なり、Fの傾向を示している。Fの値は0.001, 0.01 ppm においては対照と同じレベルの値を示し、0.1 ppm ではやや減少しているが、1, 10 ppm においては増加している。1, 10 ppm の場合、一部の培地に沈殿を生じたことにより鉛が除去されたとも考えられるが、対照の値と比べて約2倍の値を示しており、鉛の添加により増殖が促進されたと考えられる。この原因の詳細は明らかではない。

(4) No. 13 鉄の濃度に関する実験

培養14日目における葉状体増殖数Fと鉄濃度の関係を図-4-20中に示す。図-4-20においてFは0.001, 0.01, 0.1 ppm の場合、鉄を全く含まない場合と同じレベルの値となっているが、1, 10 ppm において急激に増加し、鉄の栄養塩としての役割を示している。ただし、100 ppm においてウキワサは死滅したが、この培地のpHは3.39と低く、低pHが死滅の原因と考えられる。

4-2-2 ウキワサの現存量の測定法に関する考察

これまでウキワサの増殖量の測定法として葉状体数の計数を用いてきた。しかし葉状体の大きさや数を考慮に入れないこの測定法は当然真の現存量とは異なっているはずである。したがって、他の測定法と葉状体数による測定との比較を行ないその妥当性について検討を加えた。葉状体数の計数以外の測定法としてウキワサの湿潤重量、葉状体面積の測定を行なった。

(1) 葉状体数と湿潤重量

検討を行なう実験対象として、No. 13 鉄の濃度に関する実験および No. 4 葉状体

増殖数の分布に関する実験における1/800MH培地の場合を選び、実験終了時における葉状体数と湿潤重量の測定を行なった。葉状体数と湿潤重量の関係を鉄の濃度に関する実験について図-4-21に示す、図-4-21において葉状体数と湿潤重量とはほぼ比例的な関係を示しており、相関係数 $r = 0.98$ となった。したがって葉状体数による測定においても湿潤重量による測定の場合とほぼ同様の結果が得られるものと考えられる。1/800MH培地を用いた実験の場合も、 $r = 0.98$ となり、よい相関を示した。

(2) 葉状体数と葉状体表面積

1) 葉状体長径の測定による方法

葉状体長径の測定より計算により葉状体面積を求める方法を用い葉状体面積の分布について検討した。

No.6 窒素の濃度に関する実験を対象とし、実験終了時における葉状体面積の分布を図-4-22に示す。ただし葉状体面積では拡大した写真より測定したことの補正などにより度数に周期的変動を生じたため5項平均移動法を用い補正を行なった。図-4-22において各窒素濃度における最頻値は約1.5~2.5mm²の範囲にあることがわかる。各フラスコにおける葉状体数と葉状体面積の和との関係を図-4-23に示す。図-4-23において各プロットは直線性を示し、相関係数 $r = 0.997$ となった。

2) 面積計による方法

葉状体を写したフィルムを面積計に通す方法により面積を求め、葉状体数との関係を検討した。No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験における1/8MH培地の場合における検討結果を図-4-24に示す。図-4-24における葉状体数と葉状体面積との相関係数 $r = 0.851$ となった。

以上のごとく葉状体面積と葉状体数は強い相関を示し、葉状体数の測定においては各々の葉状体の面積を無視しているが、ウキクサの現存量の測定法としてすぐれた方法であると考えられる。葉状体長径の測定や面積計による方法における各操作過程にも誤差が生じることおよびその操作が非常に煩雑であることなどから、実用上葉状体数の測定はすぐ

この方法であると考えられる。

4-2-3 ロジスティック曲線による評価

第2章における藻類の増殖曲線の考察においてロジスティック曲線を用い解析を行ったが、ウキクサの増殖曲線においてもロジスティック曲線による評価が可能かどうかの検討を行った。

葉状体増殖数 F を求めるために測定した葉状体の現存数を G として表わすと、 $F = G - G_0$ 。
(ただし G_0 は植え付けた初期葉状体数)である。藻類の場合と同様に

$$\ln \frac{G}{G_m - G} = kt + C \quad (4-10)$$

$$\text{ただし } C = \ln \frac{G_0}{G_m - G_0}$$

t : 時間 (日)

k : 増殖速度定数 (1/日)

G : 葉状体現存数

G_m : 葉状体現存数の最大値

G_0 : 初期葉状体数

により k の直線性およびその値を No. 5 リンの濃度に関する実験の結果を用いて検討した。図-4-25にその1例を示す。図-4-25において、直線性が認められウキクサの場合においてもロジスティック曲線の適用が可能だと考えられる。各リン濃度における k の値を表-4-9に示す。表-4-9において、0, 40倍の場合を除けば k はほぼ一定の値を示しており、その平均値は0.293となった。藻類の場合と同様に、 k の値を知ることにより培養期間の初期において最大増殖量の推定が可能となり、培養日数の短縮が可能である。

第5節 要 約

本章においては、富栄養化試験の指標生物としてウキクサを用いることに關する基礎的な研究を行なった。ウキクサを用いることにより試験手法が非常に簡易化されるほか、さらに精度を上げるための連続培養も比較的簡易な装置で可能であると考えられるなどの利点がある。自然水など複雑な因子を含む試水によってはウキクサを用いることの可否を判断しにくいので、本章においては合成培地により、培養条件、影響因子、測定法、増殖モデルなど富栄養化の指標としてウキクサ培養試験を用いる際の基礎的な検討を行なった。以下に本章の結論を列挙する。

- 1) ウキクサ培養用培地として8倍に希釈したMH培地が適当であり、 $\text{pH } 4 \sim 8$ の範囲においては増殖に重大な阻害は認められない。
- 2) 植え付けのための前培養期間はウキクサの増殖数に影響を及ぼすため一定とする必要があり、10日間程度が適当と考えられる。
- 3) 同一条件での培養による葉状体数の分布はほぼ正規分布とみなすことができ、同一試料を培養するフラスコの数は実用上3～5個が適当と考えられる。
- 4) 窒素、リン濃度に関しては他の条件が十分であれば $0.01 \sim$ 数 ppm のオーダーの水質を反映することが可能である。
- 5) 培養温度は $20 \sim 30^\circ\text{C}$ 、照度は $5000 \sim 10000 \text{ lux}$ が適当である。
- 6) バッチ培養において同一の培地を用いた場合も葉状体増殖数は培地容量の影響を受けており、新しい培地の供給による効果が期待でき、連続培養の有効性が示唆される。
- 7) 重金属濃度に関しては、カドミウム、銅において 1 ppm 以上ではウキクサの死滅が認められるのに対し、鉛、鉄において 1 ppm 以上での過剰な濃度以下においては増殖を促進する作用が認められるなど異なった結果となったが、富栄養化試験において、阻害因子は誤った評価を与える原因となるため注意を要する。
- 8) 葉状体数によるウキクサ現存量の測定は湿潤重量や葉状体面積による測定と比較

しても妥当な方法であると考えられる。

9) ウキクサの増殖においてモ藻類と同様にロジスティック曲線の適用が可能である。

以上のごとく、ウキクサ培養試験における培養条件など基礎的な事項に関する検討の結果得られた標準的な方法を以下に示す。

ウキクサ	<i>Lemna paucicostata</i>
標準的な培地	1/8MH培地
前培養期間	10日間
培養容器	100ml エrlenmeyer フラスコ
試水量	50ml
試水の前処理	オートクレーブ処理
植え付け数	9葉状体(3植物体)
同一試料のフラスコ数	3または5
温度	25±1℃
照度	約8000 lux
培養期間	約2週間
増殖量の測定	葉状体増殖数

参 考 文 献

- 1) 三木茂: 山城水草誌, 京都府史蹟名勝天然記念物調査報告, 127, 241 (1937)
- 2) C.D. Sculthorpe: The Biology of Aquatic Vascular Plants, Edward Arnold Ltd., London (1967)
- 3) R.B. Kaul: Anatomical Observations on Floating Leaves, *Aquat. Bot.* 2, 215 (1976)
- 4) 北村四郎ほか: 原色日本植物図鑑草本編[Ⅲ] 単子葉類, 186 (1964)
- 5) 大滝末男: ウキワサ科の観察, 生物教育, 3, 16 (1960)
- 6) 牧野富太郎: 牧野新日本植物図鑑, 北隆館, 東京, 816 (1963)
- 7) 大井次三郎: 日本植物誌顕花編, 至文堂, 東京, 306 (1965)
- 8) F. Hegelmaier: Systematische Übersicht der *Lemnaceen*, *Englers Bot. Jahrb.*, 21, 268 (1895)
- 9) S.C. Mashewari: *Spirodela polyrrhiza*: The Link between the Aroids and Duckweeds, *Nature*, 181, 1745 (1958)
- 10) R. Kandeler: Species Delimitation in the Genus *Lemna*, *Aquat. Bot.*, 1, 365 (1975)
- 11) J.W. McClure: Secondary Constituents of Aquatic Agiosperms, In: J.B. Harborne (editor), *Phytochemical Phylogeny*, Academic Press, New York, N.Y. and London, 233 (1970)
- 12) J.W. McClure and R.E. Alston: A Chemotaxonomic Study of *Lemnaceae*, *Am. J. Bot.*, 53, 849 (1966)
- 13) E.B. Blazey and J.W. McClure: The Distribution and Taxonomic Significance of Lignin in the *Lemnaceae*, *Am. J. Bot.*, 55, 1240 (1968)

- 14) J.W. McClure: The Applicability of Polyphenolic Data to Systematic Problems in the *Lemnaceae*, *Aquat. Bot.*, 1, 395 (1975)
- 15) J. Veen: Preliminary Studies of the Flavonoid Pattern of *Lemna gibba* L. and *Lemna Minor* L., *Aquat. Bot.*, 1, 417 (1975)
- 16) K. Urbanska-Worykiewicz: Cytological Variation within *Lemna* L., *Aquat. Bot.*, 1, 377 (1975)
- 17) E. Landolt: Physiologische und Ökologische Untersuchungen an *Lemnaceen*, *Ber. Schweiz Bot. Ges.*, 67, 271 (1957)
- 18) J. N. Clatworthy and J. L. Harper: The Comparative Biology of Closely Related Species Living in the Same Area. V. Inter- and Intraspecific Interference within Cultures of *Lemna* spp. and *Salvinia natans*, *J. Exp. Bot.*, 10, 33 (1962)
- 19) L. DeLange: Gibbosity in the Complex *Lemna gibba* / *Lemna minor*: Literature Survey and Ecological Aspects, *Aquat. Bot.*, 1, 327 (1975)
- 20) C. Den Hartog: Thoughts about the Taxonomical Relationship within the *Lemna ceae*, *Aquat. Bot.*, 1, 407 (1975)
- 21) E. Landolt: Morphological Differentiation and Geographical Distribution of the *Lemna gibba* - *Lemna minor* Group, *Aquat. Bot.*, 1, 345 (1975)
- 22) P. R. Gorham: Measurement of the response of *Lemna* to growth promoting substances, *Amer. J. Bot.*, 28, 98 (1941)

- 23) P.R. Gorham : Heterotrophic Nutrition of Seed Plants with Particular Reference to *Lemna minor*, Canadian J. Res., C, 28, 356 (1950)
- 24) H. L. White : The Interaction of Factors in the Growth of *Lemna*. VII. The Effect of Potassium on Growth and Multiplication, Ann. Bot., 50, 175 (1936)
- 25) H. L. White : Ditto. IX. Further Observations on the Effect of Light Intensity on Growth and Multiplication, Ibid., 50, 827 (1936)
- 26) H. L. White : Ditto. XIII. Potassium and Light Intensity in Relation to Root Length. Ibid. N.S., 2, 911 (1938)
- 27) E. Wangerman : Studies in the Morphogenesis of Leaves VIII, A Note on the Effects of Length of Day and of Removing Daughter Frounds on Ageing of *Lemna minor*, New Phytol., 51, 355 (1952)
- 28) G. E. Blackman and G. L. Wilson : Physiological and Ecological Studies in the Analysis of Plant Environment. VI, VII, Ann. Bot. N.S., 15, 63 (1951)
- 29) G. E. Blackman and J. N. Black : Physiological and Ecological Studies in the Analysis of Plant Environment. XI. Further Assessment of the Influence of Shading on the Growth of Different Species in the Vegetative Phase. Ibid., 23, 51 (1959)
- 30) 生島功: ウキワサの生長の研究(I), 生理生態, 10, 130 (1962)
- 31) E. F. Hopkins : Manganese and the Growth of *Lemna minor*, Science, 74, 551 (1931)
- 32) N. A. Clark : The Rate of Reproduction of *Lemna major* as a Function of Intensity and Duration of

- Light, J. Phys. Chem., 29, 935 (1935)
- 33) E. Ashby: The Interrelationship of Duration and Intensity of Light, Ann. Bot., 43, 333 (1929)
- 34) H.L. White: Ditto. XIV. Potassium and Light Intensity in Relation to Growth and Assimilation, *ibid.*, 3, 619 (1939)
- 35) E. Landolt: Physiologische und Ökologische Untersuchungen an *Lemnaceen*, Berichte der Schweizerischen Bot. Gesellschaft, 271 (1957)
- 36) E. Ashby and T.A. Oxley: An Analysis of the Influence of Light Intensity and Temperature on the Assimilation Rate and the Rate of Frond Multiplication, Ann. Bot., 49, 309 (1935)
- 37) E. Rejmánková: Comparison of *Lemna gibba* and *Lemna minor* from the Production Ecological Viewpoint, Aquat. Bot., 1, 423 (1975)
- 38) R.A. Steinberg: Use of Nutrient Studies in Green Plants, J. Agr. Res., 62, 423 (1941)
- 39) R.A. Steinberg: Mineral Requirements of *Lemna minor*, Plant Physiol., 21, 42 (1946)
- 40) E.H. Bitcover and D.H. Sieling: Effect of Various Factors on the Utilization of Nitrogen and Iron by *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid. Plant Physiol., 26, 290 (1951)
- 41) K. Joy: Nitrogen Metabolism of *Lemna minor*. I. Growth, Nitrogen Sources and Amino Acid Inhibition, Plant Physiol., 44, 845 (1969)
- 42) F. Ferguson: Nitrogen Metabolism of *Spirodela oligo-*

- rhiza. II. Control of the Enzymes of Nitrate Assimilation, *Planta*, 88, 353 (1969)
- 43) E. Bolland and A. Cook: Regulation of Urease in Higher Plants, *Life Sci.*, 7, 1091 (1968)
- 44) F. Ferguson and E. Bolland : Nitrogen Metabolism of *Spirodela oligorkiza*. I. Utilization of Ammonium, Nitrate and Nitrite, *Planta*, 88, 344 (1969)
- 45) W.S. Hillman : Experimental Control of Flowering in *Lemna*. III. A Relationship between Medium Composition and the Opposite Photoperiodic Responses of *Lemna perpusilla* 6746 and *Lemna gibba* G3, *Am. J. Bot.*, 48, 413 (1961)
- 46) A.H. Pieterse *et al.* : Control of gibbosity in *Lemna gibba* G3 by - ethylenediamine-di-o-hydroxy-phenylacetic acid (EDTA) , *Acta. Bot. Neerl.*, 19, 521 (1970)
- 47) A.H. Pieterse *et al.* : Investigations on the Effects of Metal Ions and Chelating Agents on Growth and Flowering of *Lemna gibba* G3, *Plant Cell Physiol.*, 11, 879 (1970)
- 48) P.N. Seth : Studies on the Growth and Flowering of a short-day plant, *Wolffia microscopica*. II. Role of Metal Ions and Chelates, *Planta*, 90, 349 (1970)
- 49) S. Gupta and S.C. Maheshwari: Growth and Flowering of *Lemna paucicostata*. I. General Aspects and Role of Chelating Agents in Flowering, *Plant Cell Physiol.*, 11, 83 (1970)
- 50) L. DeLange and A.H. Pieterse : A Comparative Study of the Morphology of *Lemna gibba* L. and *Lemna*

- minor* L., Acta. Bot. Neerl., 22, 510 (1973)
- 51) L. DeLange : Translocation Experiments in the Field with the *Lemna gibba* - *Lemna minor* Complex, Acta. Bot. Neerl., 23, 109 (1974)
- 52) A. H. Pieterse : Physiological, Morphological and Anatomical Aspects of Gibbosity in *Lemna gibba*, Aquat. Bot., 1, 33 (1975)
- 53) W. S. Hillman : Experimental Control of Flowering in *Lemna*. IV. Inhibition of Photoperiodic Sensitivity by Copper, Am. J. Bot., 49, 892 (1962)
- 54) F. Yoshimura : On the Minimum Concentration of Manganese Necessary for the Growth of *Lamnaceae* Plants, Bot. Mag., 55, 163 (1941)
- 55) 吉村フジ : 浮萍科植物の生育に対するビタミンB₁の必要性に就いて, 植物学雑誌, 57, 156 (1943)
- 56) 吉村フジ : 浮萍科植物の生育に対する必要元素, 植物学雑誌, 57, 319 (1943)
- 57) 吉村フジ : ウキウサ科植物の生理学的研究 III - VI, 植物学雑誌, 63, 63 (1950)
- 58) 栗林宗人 : 公害防止計画における水質汚濁計算について, 水処理技術, 13, 53 (1972)
- 59) 岩井重久, 石黒政儀 : 応用水文統計学, 森北出版, 東京, 57 (1970)
- 60) 多賀保志 : サンプル調査の理論, サイエンス社, 東京, 98 (1976)

第5章 ウキクサを用いた富栄養化試験の応用に関する研究

第1節 概説

第4章においては合成培地を用いウキクサ培養試験に関する基礎的な検討を行なったが、本章においては自然水などを対象としウキクサ培養試験を行なった。

現実の水域にはさまざまな物質が含まれていると考えられ、それらの影響により同程度の栄養塩レベルであっても合成培地の場合とは異なった増殖を示す可能性が十分にある。富栄養化の指標としてのウキクサ培養試験の実用化のための基礎的な検討を行なうため、本章においては、鴨川水系河川水、琵琶湖湖水、室内実験による底泥溶出水を試験対象とした。これらの試水に対して、ウキクサ培養試験の適用の妥当性、水質やAGPとの関連、オートクレーブ処理を行わない半連続培養との比較、統計的な検定などに関して検討を行なった。

第2節 レムナ・テストや自然水などに関する文献的考察

(1) レムナ・テスト (Lemna Test)

ウキクサ培養により試水の評価を行なうバイオ・アッセイの1種をレムナ・テストと呼ぶ。これまでに行なわれたレムナ・テストは毒性の検定を目的とするものがほとんどであり、富栄養化試験として用いた例はほとんどない。

大阪府の数ヶ所の雨水によりウキクサを培養した結果を図-5-1に示す。¹⁾ 図-5-1において汚染地区では負の増殖率となっている。これは雨水のpHによるものとも考えられるが、それ以外に雨水中の重金属の影響も大きく関係していると考えられている。^{2) 3)}

大阪府内の雨水に栄養塩を添加し、ウキクサを培養した結果と雨水中の Zn 、 Cu 濃度をそれぞれ図-5-2、図-5-3に示す。⁴⁾

洗剤の毒性に関するウキクサ培養試験においては、ウキクサへの毒性は生物学的分解が容易なLASの方がABSより強いという結果が得られている。⁵⁾

(2) 浮流水生植物の利用

最近、浮流水生植物、主としてウキクサとホテイアオイとを水処理に利用したり、飼料として利用しようという試みが行われ始めている。⁶⁾ 浮流水生植物は無機窒素をよく吸収し、家庭排水、家畜排水の処理や3次処理法として検討されている。⁷⁾⁸⁾⁹⁾

C:Nの組成比が9~18である *Salvinia minima* を用いた栄養塩除去に関する実験においては、野外において年間、1 acre 当り 127 kg-乾重、(53 kg-N、14 kg-P) が除去され、窒素においては約13人分、リンにおいては約10人分の負荷量に相当すると推定されている。¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ スキムミルク溶液を用いた野外実験においては、ホテイアオイによって $7.46 \text{ kg/m}^2/\text{month}$ の生産があり、対照としたラグーンより水質がよくなっていた。¹³⁾ またホテイアオイの現存量は $630 \sim 1472 \text{ g 乾重/m}^2$ 、生産量は $1500 \sim 4400 \text{ g 乾重/m}^2/\text{年}$ という報告もある。¹⁴⁾ 酸化池より植物プランクトンを除去する試みも行われているが、これには相当の装置が必要となる。¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ またホテイアオイは寒さに弱く生育地域が限定されるが、ウキクサの場合は寒冷地以外の広い地域において利用が可能である。2次処理水による *Spirodela polyrrhiza* の培養においては最初 3.53 mg/l であったリン濃度が12週間の培養の後 0.09 mg/l となった。¹⁸⁾

水処理あるいは飼料としてウキクサを利用する利点は、1) 増殖率が高い、2) 取り扱いが簡単、3) タンパク質やミネラルの含有率が高く、繊維質が少ない、4) 年間を通じて、比較的長い期間培養が可能である、5) 毒性が低く、害虫などが少ない などである。¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾

(3) 鴨川水系

1967年、1970年における鴨川水系の水質を図-5-4、表-5-1に示し、珪藻の調査結果を表-5-2に示す。²³⁾ また生物種の数により水質の判定を行なう

biotic index による鴨川水系の評価を図-5-5に示す。²⁴⁾ また最近2、3年間に
おける鴨川水系のリン、窒素濃度に関して、京都市衛生研究所年報、²⁵⁾ 京都府公共用水
域測定結果²⁶⁾より抜粋しそれぞれ表-5-3、表-5-4に示し、淀川水質汚濁調査報
告²⁷⁾より抜粋し表-5-5、表-5-6に示す。

これらの結果より、鴨川水系の下流においては、富栄養化した湖沼より高い濃度を
示していることが明らかである。一般に河川においては栄養塩の増加による富栄養化は顕
在化しにくく、鴨川水系においても特別問題とはなっていない。これは、流下時間が短
かいためである。しかし多摩川などの浅い河川における付着性生物による二次的なCOD
の増加や下流への影響を考慮すれば²⁸⁾ 鴨川水系においてもリン濃度、窒素濃度を制御す
ることが望ましいと考えられる。

(4) 琵琶湖

琵琶湖の現状を表-5-7に示す。²⁹⁾

水質試験年報による昭和51年における南湖の窒素、リン濃度および生物数を表-5-8
に、京都市蹴上浄水場の水道原水中の生物数を図-5-6に示す。³⁰⁾ 琵琶湖水質調査
報告書による昭和52年における窒素、リン濃度を表-5-9に、またそれらの昭和44~52
年の変化を表-5-10に示す。³¹⁾

環境白書による昭和51年~52年における今津口と長浜港を結ぶ中央の地点(北湖北
部の中央)における水深別の水質を表-5-11に示し、これよりやや北部の地点におけ
る生物数の変化について図-5-7 ~ 図-5-10に示す。³²⁾ また滋賀県による昭和
48年の窒素、リンの負荷原因の推定比率を図-5-11に、³²⁾ 土木学会による窒素、リ
ン負荷推定量を表-5-12に示す。³³⁾

琵琶湖北湖はその周囲に多くの人口を有する平地の湖ではあるが長く貧栄養を保つて
きた。しかし以上の資料により近年地域的にはやや富栄養へ移行しつつあると考えられる。
とくに、1977、1978年の5、6月に一般に赤潮と呼ばれる現象が発生し、富栄養化への
徴候と考えられている。この淡水赤潮の原因となる生物は黄色鞭毛藻の *Uroglena volvox*
または *Uroglenopsis americana* であり、1 ml 中1700群体にまで達し、水色は
褐色、黄土色、黄緑色となり、透明度は2 m程度になるという。³⁴⁾ 1977年における

淡水赤潮発生状況を図-5-12に示す。1978年5、6月においてはさらに広い地域で淡水赤潮の発生が認められた。³⁵⁾琵琶湖水質調査報告書³¹⁾より作成した1977年5月の水質を湖西岸、湖中、湖東岸について図-5-13～図-5-17に示す。これらの図より水質的には東側の方が悪いにもかかわらず、図-5-12における淡水赤潮発生地域はほとんどが西側であり、窒素、リン濃度と淡水赤潮の発生との関連性は薄い。これは赤潮プランクトンの集積機構に原因があるとする説もあるが、³⁵⁾詳細は不明である。

(5) 底泥

富栄養化の機構において底泥は栄養塩の貯蔵庫としてまた放出源として重要な役割を果たすと考えられる。瀬戸内海における底泥の調査において、 $\text{NH}_4\text{-N}$ $5\mu\text{g/ml}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ $1\mu\text{g/ml}$ (開けき水中)が富栄養化の危険レベルとされた。³⁶⁾ また底泥からの栄養塩の溶出に関する実験的研究も行なわれている。^{37) 38)}

第3節 ウキクサを用いた富栄養化試験の応用に関する研究

3-1 実験方法

河川、湖などから採水した試料は実験室に持ち帰り、東洋ろ紙 No. 5Aによりろ過した後冷蔵庫に保存し、数日以内に水質測定、ウキクサ培養試験、必要に応じ藻類培養試験を行なった。ウキクサの培養方法は第4章の培養方法の標準的な方法に従い、藻類培養法においても第3章の静置による培養方法に従ったが、照度は約 7000 lux とした。

葉状体面積は第4章の場合と同様に、ウキクサを撮影し拡大したフィルムを面積計により測定し、湿潤重量測定においてはウキクサをろ紙により水を切り約30分後に重量を測定した。

水質の測定は下水道試験方法により、³⁹⁾ TOCの測定はOceanography International Co. 製 0524B-AA-303型を用いた。

次に各実験ごとに採水、試験方法について述べる。

〔1〕 鴨川水系河川水

(1) 鴨川水系河川水によるウキクサ培養試験Ⅰ

京都市内を流れる鴨川水系における、高野川、鴨川、桂川、淀川の9地点の表層水を採水し試料とした。(ただし、淀川は1地点のみである。) 採水地点を図-5-18に示す。採水地点の概要を表-5-13に示す。採水日時は1978年2月14日であり、天候は晴であった。この鴨川水系河川水を用いた実験においては藻類培養試験は行なっていない。

(2) 鴨川水系河川水によるウキクサ培養試験Ⅱ

採水地点は(1)鴨川水系培養試験Ⅰの場合と同一である。ただしSt. 9樟葉において(1)試験Ⅰでは左岸であったが、今回は右岸より採水を行なった。採水日時は1978年8月18日で、この日は、降雨後の晴れた日であった。

(3) 鴨川水系河川水によるウキクサ培養試験Ⅲ

使用した試料は(2)鴨川水系培養試験Ⅱの場合と全く同一である。本試験においては、オートクレーブ処理を行わずウキクサを培養することとした。培養条件も(2)試験Ⅱと同一である。ただし、オートクレーブ処理を行わない場合、試水中の藻類、バクテリアなども増殖し、ウキクサと栄養塩の摂取において競合するなどの影響があると考えられるため、毎日ガーゼによりウキクサをこしとり、新しい試水と入れかえ再びウキクサを浮かせるという方法により培養を続けた。

〔2〕 琵琶湖湖水

(1) 琵琶湖湖水によるウキクサ培養試験Ⅰ

琵琶湖南湖において7地点、北湖において5地点より採水し試料とした。採水地点を図-5-19に示す。南湖においては水深0.5mの表層水を、北湖においては湖畔より数mの沿岸表層水を採水した。採水日時は1978年3月20日、天候は曇で北湖では風が強く、一時大つぶの霰が降った。

(2) 琵琶湖湖水によるウキクサ培養試験Ⅱ

南湖において2地点の表層水を採水し、北湖においては近江今津と尾上港を結ぶ線より7地点より表層水のみ、あるいは中層水、底層水をも含め採水した。採水地点を図-5-20に示し、試料番号とその内容を表-5-14に示す。採水日時は1978年6月21日であり、天候は晴であった。

[3] 底泥溶出水によるウキクサ培養試験

底泥として、琵琶湖湖泥および消化汚泥を用い、上層水として用いた琵琶湖湖水を好気状態あるいは嫌気状態とし、その溶出水を試料とした。

琵琶湖湖泥は1976年9月3日、琵琶湖北湖長浜沖の水深45mの地点のものをを用い、琵琶湖湖水は同地点の表層水を用いた。消化汚泥は京都市島科下水処理場の消化槽よりの消化汚泥を遠心分離したものをを用いた。湖泥、消化汚泥の分析結果を表-5-15に示し、湖水の水質を表-5-16に示す。

実験室内における栄養塩の底泥からの溶出実験として、琵琶湖湖泥の場合、内径11cmの塩化ビニール円筒形容器に湖泥を10cm、上層水として湖水を20cmの深さとなるよう入れ、空気または窒素による曝気により好気状態あるいは嫌気状態とした。毎日あるいは隔日に50mlの上層水を引き抜き同量の未使用の湖水を補給し続け、好気状態の場合約40日後の上層水を試料とし、嫌気状態の場合約50日後の上層水を試料とした。

消化汚泥の場合、無機成分として豊浦標準砂と消化汚泥とを好気状態の場合1:12(重量比)、嫌気状態の場合1:1.3(重量比)の比率で混合したものを底泥とみなした。内径15.8cmのガラスの円筒容器にこの底泥を5cm、上層水として湖水を18cmの深さとなるよう入れ、空気または窒素による曝気を行なった。1~5日間の間隔で100mlの上層水を引き抜き同量の未使用の湖水を補給し続け、好気状態の場合約40日後の上層水を試料とし、嫌気状態の場合約60日後の上層水を試料とした。

湖泥および消化汚泥の窒素、リン含有量を表-5-17に示す。試料は湖泥の場合、溶出水、溶出水10倍希釈、溶出水100倍希釈の3段階とし、消化汚泥の場合、溶出水10倍希釈、溶出水100倍希釈、溶出水1000倍希釈の3段階とした。

3-2 実験結果および考察

3-2-1 各実験項目の実験結果および考察

[1] 鴨川水系河川水

(1) 鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅰ

各試料の水質を表-5-18に示す。表-5-18において、水質のみから判断するとSt.1以外の試料はすべて湖沼における富栄養化限界を越えており、もしこれらの地点の河川水が停滞したとすると富栄養現象をひき起こす可能性があると思像される。採水地点に関しては、St. 7, St. 8において PO_4 濃度、 NH_4-N 濃度が高く、St. 9, St. 5において NO_3-N 濃度が高くなっており、St. 6の水質が全般的に低くなっている。St. 9においては左岸より採水したため、主に不津川からの河川水を採水したものと想像される。

培養14日後の葉状体増殖数Fを表-5-18中に示す。水質およびFを図-5-21に示す。全般に水質にあまり差がないため、葉状体増殖数Fに有意な差が認められず、St. 4において大きな値を示しているにとどまる。St. 4 荒神橋は市街部ではあるがその中心部以前であり、特別に高い濃度の水質項目はなく全般的に高い濃度を示している。St. 4のFの値が他の地点より大きくなった理由の詳細は明らかではない。St. 5, 7, 8におけるFは水質に比べるとやや小さい値となっている。

(2) 鴨川水系河川水によるウキワサ培養試験Ⅱ

各試料の水質を表-5-19に示す。オートクレーブ処理による各水質の変化に関しては値が増加した試料もあり、減少した試料もあり、一定の傾向を示していないが、リン酸と硝酸性窒素濃度は増加した試料が多く、逆にアンモニア性窒素濃度は減少した試料が多いという傾向が認められる。水質は全般に下流ほど高い傾向にあるが、 PO_4 はSt. 4, 9において、 NH_4-N はSt. 7, NO_3-N はSt. 7, 8において特に高い値を示している。

(1)鴨川水系での培養試験Ⅰに比べると全般に各濃度は高くなっており、かつ上流と下流の差がより明らかとなっている。

14日間培養後の葉状体増殖数Fおよび藻類増殖量Xを表-5-20に示し、水質との関連を図-5-22に示す。ウキクサ、藻類とも水質と同様の傾向を示しているが、やや藻類の方が水質との関連が強い傾向にあり、St. 8においては両者とも大きな値を示している。

(3) 鴨川水系河川水によるウキクサ培養試験Ⅲ

水質は表-5-19と全く同一である。オートクレーブ処理を行わない場合の14日後の葉状体増殖数Fを表-5-20中に示す。Fと水質との関連性は弱い傾向にある。

[2] 琵琶湖湖水

(1) 琵琶湖湖水によるウキクサ培養試験Ⅰ

各試料の水質を表-5-21に示す。表-5-21において、St. 8 ~ St. 12の北湖沿岸水の水質は南湖の水質と同じレベルであり、硝酸濃度においては北湖沿岸水の方が高くなっている。リン酸濃度は、北湖、南湖とも西岸側(St. 2, 6, 11, 12)が東岸側より高く、TC濃度は全般的に南湖の方が高くなっている。各試料の水質、培養14日後の葉状体増殖数F、藻類増殖量Xを図-5-23に示す。Fは全般に北湖において大きくなっており、北湖の沿岸部においても南湖と同様に富栄養化の傾向にあると考えられる。

(2) 琵琶湖湖水によるウキクサ培養試験Ⅱ

各試料の水質および培養14日後の葉状体増殖数F、藻類増殖量Xを表-5-22に示す。表-5-22においてSt. 7近江今津の水質が他より全般に高くなっているのが認められる。

表層水の水質と葉状体増殖数F、藻類増殖量Xを図-5-24に示す。図-5-24においてSt. 1 ~ St. 7の表層水の水質はSt. 5において最も低く、St. 1に向かうほどやや濃度が高く、St. 7に向かうほど急激に濃度が高くなっている。FおよびXにおいてはSt. 2, 4, 7において水質と同様のピークを示し、よく水質を反映していると考えられる。

底層水の水質、F、Xを図-5-25に示す。図-5-25において濃度はSt. 4において低い傾向にあるのに対し、F、Xは逆の傾向を示しており、関連性は弱い。また表-5-

221において表層水と底層水の水質を比べると、St. 4を除きすべて底層水の水質が悪くなっていることが認められる。

南湖(St. 8, St. 9)と北湖と比較すると水質においてはあまり差は認められないが、ウキクサ、藻類による評価においてはやや南湖において高い値を示している。全試料におけるFとXを図-5-26に示す。図-5-26においてウキクサと藻類は同様の増殖傾向を示すことが明らかである。

[3] 底泥溶出水によるウキクサ培養試験

試料として用いた溶出水の水質を表-5-23に示す。ただし消化汚泥の場合は、溶出水の10倍希釈の試料の水質を示した。好気状態において、10倍希釈の消化汚泥溶出水の水質は琵琶湖湖泥溶出水の水質の $10^2 \sim 10^3$ 倍のオーダーを示し、嫌気状態において10倍希釈の消化汚泥溶出水は琵琶湖底泥溶出水に比べ、 $\text{NO}_3\text{-N}$ では同レベル、 PO_4^{3-} および $\text{NH}_4\text{-N}$ では10倍のオーダーを示している。全般的に嫌気状態において好気状態におけるより各水質の濃度は高くなっているが、嫌気状態における $\text{NO}_3\text{-N}$ は激減している。

ウキクサ培養試験の結果を図-5-27に示す。好気状態においては、葉状体増殖数Fはほぼ水質と同様の傾向を示しているが、嫌気状態においては底泥溶出水100倍希釈の場合を除きほとんど増殖が認められない。嫌気状態の各試料のpHは特に異常な値とはなっていない。ウキクサが増殖しなかった原因としては、低レベルの硝酸濃度を反映したものの、あるいは溶出水中にウキクサの増殖を阻害する物質が含まれていたのではないかと推定される。ただし、ウキクサはアンモニア性窒素の摂取が可能であること、琵琶湖湖泥溶出水の100倍希釈においてFはほぼ好気状態のレベルまで回復していること、3段階の希釈のすべての場合に PO_4 や $\text{NH}_4\text{-N}$ が過剰であり、抑制的に作用したとは考え難いことなどから、溶出水中にウキクサの増殖を阻害する物質が含まれていた可能性が強いと考えられる。

3-2-2 ウキクサ現存量の測定法に関する考察

第4章の基礎的な実験結果に対して検討を加えたのと同様に、葉状体数と湿潤重量との関係、および葉状体数と葉状体面積との関係について検討を加える。

葉状体数と湿潤重量との関係に関して、[1](2) 鴨川水系による培養試験Ⅱ および [2] (2) 琵琶湖湖水による培養試験Ⅱ について検討を行なった。葉状体数と湿潤重量との相関係数はそれぞれ 0.98, 0.96 となり強い相関を示し、自然水を試験対象とした場合においても、葉状体数による測定は湿潤重量による測定と同様の傾向を示すと考えられる。

葉状体数と葉状体面積との関係を 2 琵琶湖湖水による培養試験Ⅱ について検討を行なった。葉状体数と葉状体面積の関係を図-5-28に示す。図-5-28における相関係数は 0.93 であり、同一葉面積における葉状体数のばらつきは $\pm 20 \sim 30\%$ となるものもあり、湿潤重量の場合より精度は低くなっている。

3-2-3 水質と生物指標および生物指標間の相関に関する考察

(1) 自然水の水質と生物指標との相関に関する考察

[1] 鴨川水系河川水 および [2] 琵琶湖湖水の各水質とウキクサ葉状体増殖数 F および藻類増殖量 X との関連について検討するため、それぞれの相関係数を求め、表-5-24に示した。表-5-24において、鴨川水系Ⅰの場合、全般に各々の水質とウキクサ増殖数 F の間の相関は小さい。鴨川水系Ⅱの場合、ウキクサ増殖数 F は PO_4 と強い相関を示し、さらに $PO_4 + NO_3-N$ との相関がリン酸単独の場合より強くなっているが、藻類増殖量 X においては、 PO_4 より NO_3-N との相関が強く、ウキクサとは異なった傾向を示している。鴨川水系Ⅲにおいては PO_4 とやや相関が強い傾向がみられる。

琵琶湖Ⅰにおいては、 NO_3-N と藻類増殖量 X との相関がやや強い傾向を示しているのみである。琵琶湖Ⅱにおいては PO_4 および NH_4-N と藻類増殖量 X との相関がやや強い傾向が認められるが、ウキクサにおいては全般に水質との相関は強くなかった。

これらの結果より、さまざまな自然水における特定の水質と生物指標との著しい相関は見いだせなかったが、リン酸や硝酸性窒素との関連がやや強い傾向にあることが明らかとなった。琵琶湖の表層水においてウキクサ増殖数と水質との関連が認められたが、底層水においてはそれが認められなかったごとく、生物指標によりすべての自然水の水質を適確に反映することはかなり困難であると考えられる。しかし各々の培養試験結果において考察したごとく、水質の全般的な状態を把握し総合的な評価を行なうためには、ウキクサや

藻類などの生物指標は有効であると考えられる。

(2) ウキクサ培養試験結果と藻類培養試験結果との相関に関する考察

[1]鴨川水系Ⅱ、[2]琵琶湖Ⅰ、琵琶湖Ⅱの各実験におけるウキクサによる評価と藻類による評価との関連を検討するため、それらの相関係数を求め、表-5-25に示す。表-5-25において[1]鴨川水系の場合、オートクレーブ処理をした試験法によるウキクサ増殖数 F と藻類増殖量 X とは強い相関を示している。しかし、オートクレーブ処理をせず試水を交換して培養を行なった鴨川水系Ⅲにおけるウキクサ増殖数 F と藻類増殖量 X との相関係数は0であり、オートクレーブ処理を行なわないウキクサ培養法により藻類増殖試験法の代用とすることは困難であると考えられる。ただしオートクレーブ処理の前後における水質は変化していると考えられるから、鴨川水系Ⅲにおいてはオートクレーブ処理前の水質を的確に反映しているため、鴨川水系Ⅱの場合と異なった結果となった可能性もありさらに詳しい検討が必要である。

また[2]琵琶湖の場合、琵琶湖Ⅰでは F と X は相関が弱く、琵琶湖Ⅱでは F と X との相関が強いという結果となった。

3-2-4 統計的検定に関する考察

1 試料の葉状体増殖数のデータは3または5個のフラスコにおける葉状体増殖数の平均値として得たものである。この平均値として得られたデータ間に統計学的に有意な差が認められるかどうかについて検討を行なった。

まず葉状体増殖数の分布は正規分布とみなせることを、第4章 No.4 葉状体増殖数の分布に関する実験において明らかにした。正規分布を示す試料の平均値における有意差の有無の検定を t -検定法を用いて行なう場合、試料間の分散は等しいという前提が必要である。したがって、多試料における等分散の検定のために Bartlett の検定法を用い、次に等分散における平均値の有意差の検定のため、一元配置分散分析法を用いた。一元配置分散分析法では平均値に有意な差があるかどうかを全体として判断するわけであるが、さらに特定の2試料の平均値における有意差の検定を、 F -検定により等分散を確認した上、

t-検定により行なった。なお、F-検定により異分散と判定された2試料平均値間の有意差の検定は、等分散を前提とする必要のない独立2試料無作為化検定法により行なった。

a) Bartlett の検定法

k組の試料の不偏分散を S_i^2 とし、各試料の大きさを n_i 、自由度を f_i とする。平均的な分散 S^2 は次式で与えられる。

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^k f_i S_i^2}{\sum_{i=1}^k f_i}$$

また、

$$M = 2.3026 \left\{ \left(\sum_{i=1}^k f_i \right) \log S^2 - \sum_{i=1}^k f_i \log S_i^2 \right\}$$

および

$$C = 1 + \frac{1}{3(k-1)} \left\{ \sum_{i=1}^k \frac{1}{f_i} - \frac{1}{\sum_{i=1}^k f_i} \right\}$$

より、

$$\chi_{k-1}^2 = \frac{M}{C}$$

これを χ^2 分布により比較する。

b) 一元配置分散分析法

F-検定法により行なう。

c) 一元配置における2試料(群)の平均値における有意差の検定

t-検定法により行なう。

これらの検定を1試料を5個のフラスコによって培養を行なった鴨川水系羽川水による

ウキウサ培養試験Ⅱおよび琵琶湖湖水によるウキウサ培養試験Ⅱについて行なった。

(1) 鴨川水系河川水によるウキウサ培養試験Ⅱに関する統計学的検定

13日目の葉状体増殖数に関して Bartlett の検定法による検討を行なったが、全試料を対象とした場合5%の有意水準では等分散とみなすことはできなかった。そこで非常にかけはなれた値を示した St. 7 および St. 8 を除いた試料について検定を行なった結果 $\chi^2_{cal} = 9.551$ となり、 $\chi^2_6(0.05) = 12.592$ より小さな値となったため、St. 7 および St. 8 を除いた試料については5%有意水準において等分散とみなすことができた。次に F-検定を St. 7 および St. 8 を除いた試料について行なった結果 $F_{cal} = 58.90$ となり、 $F_{28}^6(0.01) = 4.02$ より大きな値を示し、1%有意水準において全体として有意な差があると認められた。各2試料間の t-検定の結果を表-5-26に示す。表-5-26において、St. 1, 2, 9 では他の試料と5%有意水準で有意差が認められるが、St. 8 においては t-検定の前提となる等分散という条件を得ることができなかった。全体として5%以内の有意水準で有意差が認められたものは、24/36に達し(対照を除く)、統計学的にも十分有意な差が認められた。

(2) 琵琶湖湖水によるウキウサ培養試験Ⅱに関する統計学的検定

14日目の葉状体増殖数において Bartlett の検定法による検討を行なった結果、全試料に対し $\chi^2_{cal} = 7.092$ となり、 $\chi^2_{14}(0.05) = 23.685$ より小さな値となったため、5%有意水準において等分散とみなすことができた。次に F-検定による検討の結果、 $F_{cal} = 3.038$ となり、 $F_{59}^{14}(0.01) < F_{40}^{20}(0.01) = 2.95$ より、1%有意水準において全体として有意な差があると認められた。各2試料間の t-検定の結果を表-5-27に示す。表-5-27において St. 2-1, 2-2, 6-2, 8, 9 では他の多くの試料と有意な差が認められるが、St. 1, 4-1, 7 においてはあまり他の試料と有意な差が認められない。全体として、5%以内の有意水準で有意差が認められるものは26/105であるが、20%以内の有意水準では48/105に達した。総合的な水質において差がなければ葉状体増殖数においても有意な差が認められないのは当然であるから、統計学的にも全体としてかなり有意な結果が得られたと考えられる。

第 4 節 要 約

本章においては、第4章において培養法など基礎的な研究を行なったウキワサ培養試験法を用い、自然水などを対象として実験を行ない、試水の評価や試験法の適用性などについて研究を行なった。

以下に本章の結論を列挙する。

- 1) 鴨川水系河川水においてウキワサ培養試験結果は水質および藻類増殖試験結果とほぼ同様の傾向を示し、水質ではリン酸との相関が強かった。
- 2) 琵琶湖水においては、ウキワサ培養試験結果は水質とあまりよい相関を示さなかったが、表層水ではそれらは同様の傾向を示したのに対し、底層水では全く異なった傾向を示すなどの違いが認められた。
- 3) 琵琶湖北湖の沿岸部の各水質の濃度は南湖と同様に高い値となっており、ウキワサ培養試験の結果においても北湖の沿岸部は南湖と同程度あるいはそれ以上の値を示した。
- 4) 琵琶湖湖泥および消化汚泥を底泥とした溶出水において、好気状態の場合はウキワサ培養試験は水質をよく反映したが、嫌気状態の場合はウキワサはほとんど増殖を示さず、阻害因子が含まれていたものと推定される。
- 5) ウキワサ培養試験結果と藻類増殖試験結果との相関関係は、琵琶湖Ⅰの場合よくなかったが、鴨川水系Ⅱ、琵琶湖Ⅱの場合相関係数はそれぞれ 0.75 および 0.60 となり、ほぼ同様の傾向を示すことが明らかとなった。
- 6) オートクレーブ処理を行わない半連続培養法による結果は標準的なオートクレーブ処理を行なうバッチ培養の結果とは異なった傾向を示したが、これはオートクレーブ処理による水質の変化によるものか、細菌や他の微生物の影響によるものか明らかでなく、オートクレーブ処理を行わない培養法の可能性などについては今後の検討課題である。
- 7) 一般に生物を用いた実験の誤差は大きいですが、自然水を対象としたウキワサ培養試

実験結果においては、一元配置分散分析により全体として1%の有意水準において有意差が認められ、各2試料間においても5%有意水準あるいは20%の有意水準まで考えれば十分有意差が認められる。

したがって、自然水などを対象としたウキワサ培養試験は、すべての場合により精度を示すとは言えないが、おおよそ水質や藻類増殖試験と同様の傾向を示し、有効な富栄養化指標となりうると考えられる。

今後さらに精度を上げて行くには試料容量を増加したり、連続培養法を用いたりする必要があると考えられるが、ウキワサを用いる場合、試料のみを投入、流出させウキワサは培養容器内にとどめておくような連続培養装置を比較的容易に利用でき、これにより比較的多量の試水の影響を検出することにより精度を上げることが可能であると考えられ、これが今後の検討課題である。

参 考 文 献

- 1) 佐藤治雄: 都会の雨と植物, バイオテク, 3, 123 (1972)
- 2) 佐藤治雄: 再水中の重金属イオンによるアオウキクサの生育阻害, 生態学会第23回大会講演集, D25 (1973)
- 3) 佐藤治雄, 庵原逸: 大阪市内の雨水が植物の生長におよぼす影響, 大阪府総合計画局公害対策部編, 大気汚染が植物に及ぼす影響調査昭和43年度版, 49 (1968)
- 4) 日本生態学環境問題専門委員会編: 環境と生物指標1-陸上編-, 共立出版, 東京, 80 (1975)
- 5) 大藤康史: 京都大学工学部卒業論文 (1976)
- 6) J.L. Yount and R.A. Crossman, Jr.: Eutrofication Control by Plant Harvesting, J.W.P.C.F., 42, R173 (1970)
- 7) D.F. Westlake: Comparisons of Plant Productivity, Biol. Rev., 38, 385 (1963)
- 8) N.W. Pirie: The Merits of Food Proteins from Novel Sources, Sci. Progr., 54, 401 (1966)
- 9) H. Bouwer: Returning Wastes to the Land, A New Role for Agriculture, J. Soil & Wat. Cons., 23, 164 (1968)
- 10) J. J. Gaudet: Growth of a Floating Aquatic Weed, *Salvinia* under Standard Conditions, Hydrobiol., 41, 77 (1973)
- 11) D. P. Zutshi and K. K. Vass: Ecology and Production of *Salvinia natans* HOFFM in Kashmir, Hydrobiologia, 38, 303 (1971)
- 12) K. K. Steward: Nutrient Removal Potentials of Various Aquatic Plants, Hyacinth Cont. J., 8, 34 (1970)

- 13) 喜納政修: ホテイアオイ池による有機废水处理実験, 下水道協会誌, 13, (7), 37 (1976)
- 14) W.T. Penfound and T.T. Earle: The Biology of the Water Hyacinth, Weed Sci., 20, 423 (1972)
- 15) W.J. Oswald: The Coming Industry of Phytosynthesis, Amer. J. Pub. Health, 52, 235 (1962)
- 16) C.G. Golueke and W.J. Oswald: Harvesting and Processing Sewage-Grown Algae, J.W.P.C.F., 37, 471 (1965)
- 17) R.H.T. Mattoni et al.: Industrial Photosynthesis — A Means to a Beginning Bioscience, 15, 403 (1965)
- 18) D.L. Sutton and W.H. Ornes: Growth of *Spirodela polyrrhiza* in Static Sewage Effluent, Aquat. Bot., 3, 231 (1977)
- 19) C.E. Boyd: Fresh-Water Plants: A Potential source of Protein, Econ. Bot., 22, 359 (1968)
- 20) C.E. Boyd: Vascular Aquatic Plants for Mineral Nutrient Removal from Polluted Waters, Econ. Bot., 24, 95 (1970)
- 21) K.W. Joy: Nitrogen Metabolism of *Lemna minor*. I. Growth Nitrogen Sources and Amino Acid Inhibition, Plant Physiol., 44, 845 (1969)
- 22) D.D. Culley, Jr., and E.A. Epps: Use of Duckweed for Waste Treatment and Animal Feed, J.W.P.C.F., 45, 337 (1973)
- 23) 美藤照子: 京都市内河川の水質変動, 水処理技術, 16, 563 (1975)
- 24) 津田松苗: 汚水生物学, 北隆館, 東京, 138 (1964)
- 25) 京都市衛生研究所: 昭和52年度京都市衛生研究所年報才44号, 140 (1978)

- 26) 京都市衛生部公害対策室: 京都市公共用水域水質測定結果(一括編), (1976)
- 27) 池田汚濁防止連絡協議会: 昭和50年度淀川水質汚濁調査報告, (1976)
- 28) 大竹久夫ほか: 富栄養化に関する基礎的研究(オ10報), オ27回日本環境工学会大会講演集, 124 (1975)
- 29) 津田松苗: 水質汚濁の生態学, 公害対策同友会, 東京, 191 (1972)
- 30) 京都市水道局: 水質試験年報昭和51年度オ29集, (1976)
- 31) 近畿地方建設局琵琶湖工事事務所, 滋賀県生活環境部, 滋賀県衛生環境センター: 昭和52年度琵琶湖水質調査報告書, (1977)
- 32) 滋賀県: 環境白書昭和52年度版 (1977)
- 33) 土木学会: 琵琶湖の将来水質に関する調査報告書昭和45年度, 56 (1970)
- 34) 若林徹哉, 一瀬諭: 私信(滋賀県立衛生環境センター)
- 35) 京都新聞: '78赤潮を追う, 昭和53年6月27日, (1978)
- 36) 澤田正夫, 中西弘: 西瀬戸海域底泥の富栄養化特性(1), 用水と廃水, 16, 561 (1974)
- 37) 鈴木秀男: 湖沼底質と上層水間における栄養塩類の移行機構に関する研究, 京都大学修士論文, (1977)
- 38) 瓜生昌弘: 湖沼底質による栄養塩類の保持と溶出に関する研究, 京都大学修士論文 (1978)
- 39) 下水道協会編: 下水試験方法, (1974)

第 6 章 結 論

第1節 本研究の総括 および主要な成果

本論文においては、富栄養化の生物指標としての藻類培養試験およびウキワサ培養試験に関して実験的研究を行なった。

富栄養化の指標として理化学的試験以外に生物学的試験が不可欠であるが、野外における生物調査においては生物種の同定などの専門的な知識が必要であり、その結果も定量性や再現性に問題がある。実験室内において試水に藻類およびウキワサを植え付け、その増殖量により栄養塩濃度を測定する藻類増殖試験、ウキワサ培養試験は富栄養化の指標として重要である。これらの生物培養試験は簡便的な富栄養化の測定が可能であり、さまざまな因子を総合的に評価でき、再現性が良いなどの利点を有している。しかし生物培養試験においては生物学上の特殊な手法を避けることができず、生物学分野以外の広範な研究者、技術者が生物培養試験を用いる際の障害となっている。したがって本研究においては、富栄養化現象に対処しようとする衛生工学分野をはじめとする広範な人々にも生物培養試験が利用できるよう試験方法の簡易化やその適用性に対する検討など基礎的な研究を行ない、自然水およびパイロットプラントによる3次処理水の評価など生物培養試験の実用化に関する研究を行なった。

第1章では富栄養化現象の現状、栄養塩濃度、生物指標などについて文献的な考察を行ない、生物培養試験により富栄養化の評価を行なう意義を明らかにした。

第2章では簡易化した藻類増殖試験を用い、この簡易法に対する検討、さまざまな栄養塩レベルの試水への適用性およびAQPによる試水の評価などを行なった。簡易法に関しては、スクリュキャップの使用は可能であること、用いる藻類により異なった傾向が認められ、適切な藻類を選ぶ必要があること、前処理にはろ過処理よりオートクレーブ処理の方が手法的には適していること、試験管を培養容器とした場合、本研究で採用した程度

の根とう回数では根とうによる効果はあまりないと考えられること、最大増殖量に達するには2, 3週間を要するが、実用的には培養期間が2週間程度となるよう試料を湖水などにより適切に希釈する必要があること、その適用範囲としては下水処理水など高栄養塩レベルの試水に適していることなどが明らかとなった。各下水処理水による藻類増殖量に関しては、1次処理水の場合は生下水の場合と違いはなく、2次処理水の場合は生下水の場合の約1/2に減少し生物処理の効果を示したが、低い希釈率での影響が大きく、2次処理水による水域のAGPへの影響は大きいと考えられる結果となった。バッチ培養による藻類増殖量にはロジスティック曲線の適用が可能であり、パラメータの把握により培養日数の短縮などが可能であること、連続培養においては実験の初期以外は増殖率が減少しており装置の改良が必要であることなどが明らかとなった。

第3章においては、パイロットプラントにより下水の3次処理を行ない、簡易化し藻類増殖試験による評価を行なった。3次処理に関しては、硝化工程では温度の影響を強く受けており、脱窒工程ではメタノール希釈率の影響が大きく、凝集沈殿工程におけるリン除去率はAL/Pのモル比の影響を受けるなど、これまでの研究において指摘されてきた内容をより実地的な処理条件下で確認する結果となった。藻類増殖試験の結果より、2次処理水は富栄養化に大きな影響を与え、3次処理においては窒素除去よりリン除去による効果が大きいことが明らかとなった。藻類増殖量は硝化処理水では2次処理水よりやや大きくなり、脱窒処理水では約1/2に減少した。また凝集沈殿処理水では藻類増殖量は2次処理水の1/2～1/4に減少し、活性炭処理によりさらに1桁減少するなど各処理段階における処理水の富栄養化への影響が明らかとなった。また、活性炭処理は凝集沈殿および砂ろ過を経た処理水中に残留する微量のリンをさらに90%程度除去し得ることを見出し、このことが上記の藻類増殖量の減少と対応することを認めた。

第4章では、富栄養化指標として藻類増殖試験より操作的に容易でありかつ水質をよく反映すると考えられるウキクサ培養試験をとりあげ、培養方法や合成培地を用いた培養試験などに関する基礎的な検討を行なった。合成培地としては8倍に希釈した Modified Hoagland 培地が適当であったが、この8倍希釈培地の窒素、リン濃度は数10 mg/l のオーダーであった。植え付けのための前培養期間は10日間程度が適当であり、また同一条件での培養による葉状体数の分布はほぼ正規分布とみなすことができることから、統計

学的に同一試料は3~5個のフラスコで培養することが適当だと考えられる結果となった。リン、窒素濃度に関しては、合成培養液においてリンでは0.01~10 ppm、窒素では0.01~数 ppmの範囲の水質を反映することが可能であることが明らかとなり、培養条件では温度は20~30℃、照度は5,000~10,000 luxが適当であることが明らかとなった。増殖数は培養容量の影響を受け、連続培養の有効性が示唆される結果となった。重金属の影響に関しては、カドミウムおよび銅では阻害的な影響が認められ、鉛および鉄では促進的な影響が認められるなど重金属の種類により異なった作用が認められ、富栄養化試験において誤った評価を与える原因となるため注意を要すると考えられる。葉状体による測定は他の測定法と比較しても妥当な方法であり、またウキクサの増殖においても藻類と同様ロジスティック曲線の適用が可能であることが明らかとなった。

第5章ではウキクサ培養試験により鴨川、河川水、琵琶湖湖水、底泥層出水の評価を行ない、ウキクサ培養試験の適用性について検討を行った。鴨川水系においては、ウキクサ培養試験は水質およびAGPと同様の傾向を示し、リン酸との相関がやや強いことが明らかとなった。琵琶湖湖水においては、北湖の沿岸部は南湖と同様に富栄養化の潜在力を有し、北湖の表層水ではウキクサ培養試験と水質との関連は強かったが底層水ではあまり関連が認められないなど違いが認められた。底泥層出水では、好気状態の場合は水質をよく反映したが嫌気状態の場合はウキクサの増殖がほとんど認められず、増殖阻害因子の影響が考えられる結果となった。ウキクサ培養試験とAGPとの相関係数は0.60、0.75となり、ほぼ同様の傾向を示すことが明らかとなった。試験結果の精度としては5%あるいは20%の有意水準において有意差が認められる結果となった。

以上が本論文の主たる成果である。富栄養化の生体指標としての藻類増殖試験およびウキクサ培養試験における基礎的な事項や実用化に関して一定の成果が得られた。しかし、さまざまな物質が含まれる現実の水域の富栄養化現象を正確に評価をすることのできる実用化の段階までには、さらに詳細な研究がなされなければならないと考える。

第2節 今後に残された課題

藻類増殖試験の簡易化に関しては、ほぼ実用化の可能な段階まで検討を行なってきたが

、自然水などにおける微妙な水質の差も試験結果に反映させるにはさらに精度を高めていく必要がある。たとえば、接種藻類による栄養塩の試水への持ち込みは、試水の栄養塩レベルが低くなればなるほど測定結果に大きな誤差を生じる原因となるであろう。そのほか、藻類量の測定法など生物学的な手法の精度を高めていく必要がある。連続培養に関しては十分な増殖速度を得られるよう装置の改善が必要である。また、藻類増殖試験における毒性物質の影響に関してはほとんど検討を行ない得なかつたが、この問題の重要性については、改めて述べるまでもないであろう。

ウキウサ培養試験においては、富栄養化試験として用いられた例があまりなく、基礎的な検討を中心に研究を行なつたが、水質との関連においてやや藻類増殖試験よりおとる場合もあり、さらに基礎的な検討が必要であると考える。毒性物質に関しては一部の重金属の影響に関しては検討を行なつたが、有機性の有害物質の影響などについては検討しておらず、今後の課題である。ウキウサ培養試験の実用化に関しては河川水や湖水などにより若干の考察を行なつたが、さまざまな試水によりさらに検討が加えられなければならないと考える。また、半連続培養とバッチ培養とは異なつた結果となつていたが、ウキウサはその取り扱いやすさより連続培養が比較的容易であると考えられ、非常に微妙な水質の差を連続培養により検出できる可能性もあり、これも今後の課題である。

結 語

以上本論文では、富栄養化指標としての比較的簡易な藻類増殖試験およびウキウサ培養試験についての研究を述べた。その成果は第1節に述べた通りである。本論文の成果が富栄養化に対処しようとする技術者、研究者の一助となれば筆者の望外の喜びとするところである。

終りにのぞみ本論文作成にあたり、終始御懇篤な御指導御鞭撻を賜つた京都大学工学部衛生工学科教室岩井重久教授、寺島泰教授をはじめ、直接さまざまな御指導をいただいた北見高嶺助教授、菅原正孝助手ならびに衛生工学科教室の諸兄、さらには本研究の共同研究者である岩部秀樹、内藤操史両氏に対して衷心より感謝の意を表する次第である。

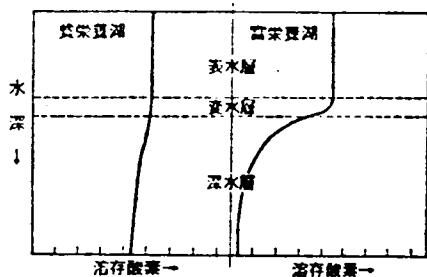


図-1-1 夏期停滞期における
有機酸分布
C.N.Sanyar 文献(6)

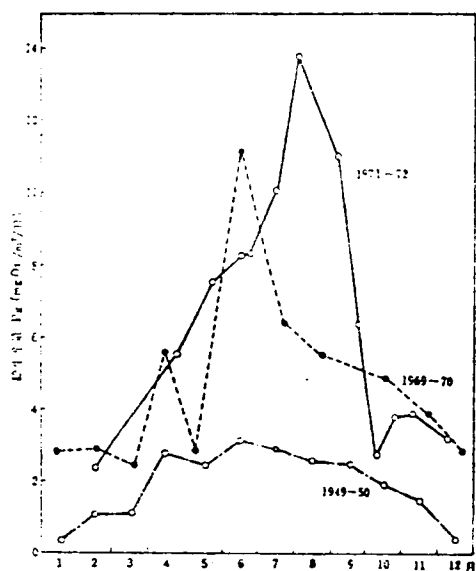


図-1-3 琵琶湖における植物生産量の
総生産量の変化
坂本 文献(15)

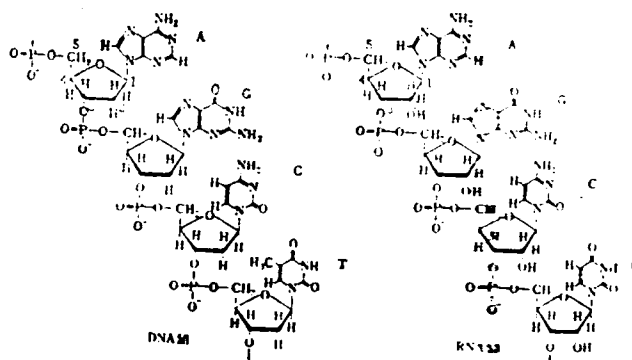


図-1-2 DNA と RNA
江本 文献(9)

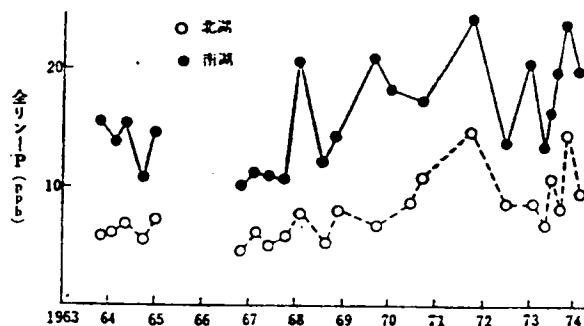


図-1-4-a 琵琶湖における全リン濃度の変化
藤永太郎 文献(16)

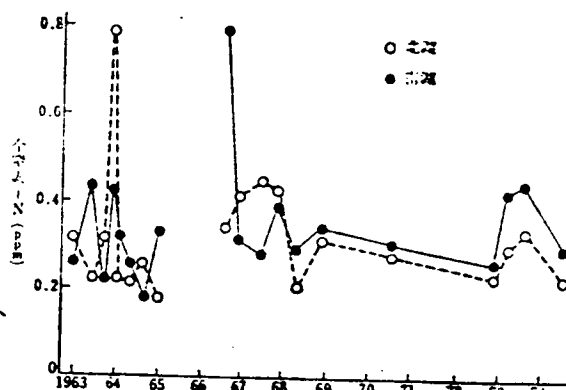


図-1-4-b 琵琶湖における全窒素濃度の変化
藤永太郎 文献(16)

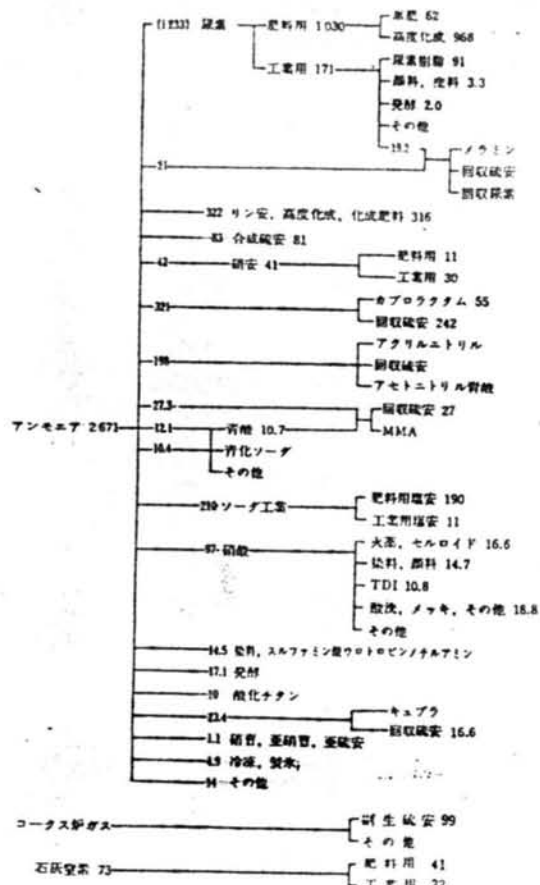


図-1-5-a 日本のアンモニア工業 (昭和44年)
浮田 琢也 (文庫 20)

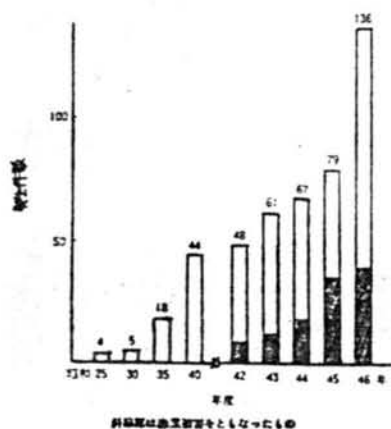


図-1-7 瀬戸内海のアンモニア生産
瀬戸内海アンモニア生産協会 (文庫 27)

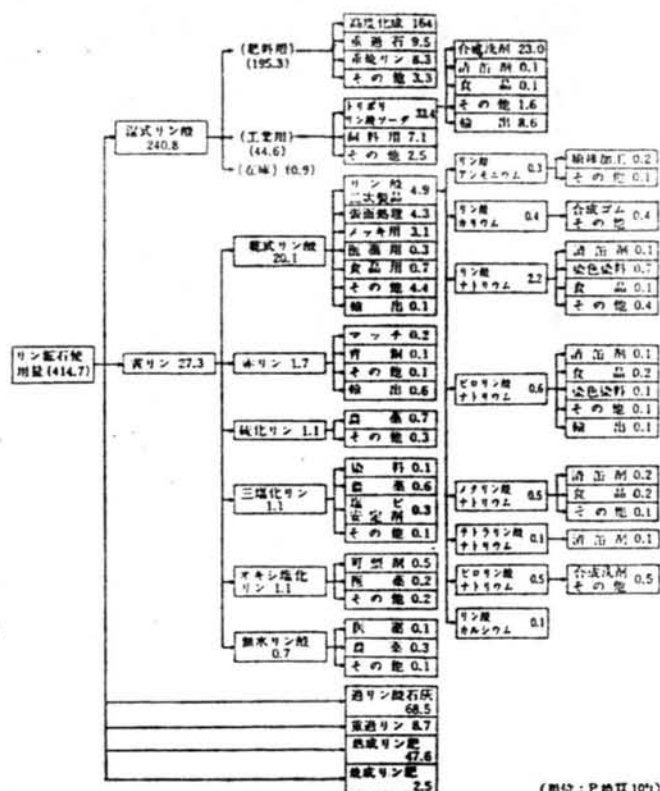


図-1-5-b 日本のリン工業 (昭和44年)

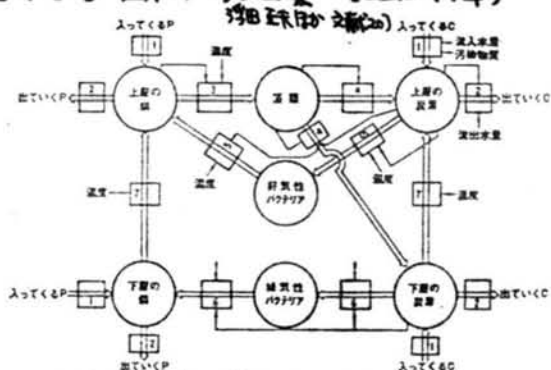


図-1-6 富栄養化モデル H.W. Tenny et al. (文庫 24)



図-1-8 瀬戸内海の状況 (1970年8,9月)
村上 新太郎 (文庫 31)

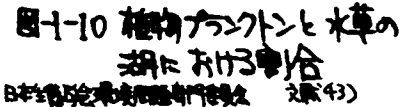
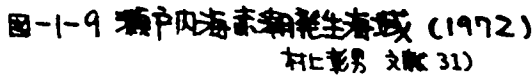


表-1-2 海域の栄養階級とその特徴

日本水産院 文獻 5)

表-1-1 貧栄養湖と富栄養湖との比較

滋賀大学経済研究所 文庫4)

表-1-3 湖沼、河川の主要化学成分濃度

	N	P	Fe	Ca
貸 栄 養 湖	0.02—0.2	0.002—0.02	0.02—0.3	1.1—23.4
中 栄 養 湖	0.1—0.7	0.01—0.03	0.1—1.1	2.3—21.9
富 栄 養 湖	1.3—6.5	0.01—0.09	0.5—0.7	3.4—26.9
河 川	0.05—1.1	0.002—0.23	0.00—2.2	2.4—28.0

	Mg	Na	SO ₄	SiO ₂
貸 栄 養 湖	0.8—4.3	0.0—5.2	0.6—24.0	1.1—28.1
中 栄 養 湖	0.1—2.0	2.1—6.7	0.8—21.8	3.0—15.4
富 栄 養 湖	2.5—11.3	5.6—28.1	0.6—28.6	1.0—41.7
河 川	0.4—8.0	2.1—25.8	1.2—33.9	6.1—54.6

M. Sakamoto 文獻(7)

表-1-4 リン酸塩の分類

物理的分類 化学的分類	全 量	溶 解 性	不 溶 解 性
全りん酸塩	(a) 全溶解性および全不溶解性りん酸塩 (a) = (e) + (i)	(e) 全溶解性りん酸塩 (e) = (a) - (i)	(i) 全不溶解性りん酸塩 (i) = (a) - (e)
正りん酸塩	(b) 溶解性および不溶解性正りん酸塩 (b) = (f) - (j)	(f) 溶解性りん酸塩 (f) = (b) - (j)	(j) 不溶解性正りん酸塩 (j) = (b) - (f)
酸による加水分解可能なりん酸塩 (重合りん酸塩)	(c) 溶解性および不溶解性の酸加水分解可能なりん酸塩 (c) = (四やかな酸加水分解処理による分析値) - (b)	(g) 溶解性の酸加水分解可能なりん酸塩 (g) = (五過後、四やかな酸加水分解処理による分析値) - (f)	(k) 不溶解性の酸加水分解可能なりん酸塩 (k) = (c) - (g)
有機性りん酸塩	(d) 溶解性および不溶解性有機性りん酸塩 (d) = (a) - (b) - (c)	(h) 溶解性有機性りん酸塩 (h) = (e) - (f) - (g)	(l) 不溶解性有機性りん酸塩 (l) = (d) - (h)

日本下水道協会 文獻(13)

表-1-5 諏訪湖 湖心部表層水の栄養塩濃度の推移

溶存栄養塩類	1910年代(8月)	1940年代後半(3月)	1960年代後半(4月)
NH ₄ -N	0	0.1—0.15	0.1—0.2
NO ₃ -N	0	0.003	0.01—0.02
NO ₂ -N	痕跡	0.12	0.20—0.25
PO ₄ -P	痕跡	0.02	0.01—0.02
Cl ⁻	8.0	11.0	13.0

(単位: mg/l)

山岸忠雄 文獻(14)

表-1-6 表剤などによる汚濁負荷量、原単位の変化

年度		38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
全固 汚濁量 (4t/日)	CODcr	614	578	555	572	604	617	657	682	699	735	806	851	701
	N	3.31	3.49	3.95	4.53	4.83	5.78	6.59	7.09	8.45	9.18	9.12	9.44	8.06
	P	12.1	13.2	15.9	18.8	23.0	24.0	26.6	28.2	30.1	31.7	35.4	38.5	21.1
原 単 位	CODcr (g/人・日)	17.4	16.2	15.4	15.8	16.5	15.7	16.4	18.0	18.1	18.9	20.3	21.8	16.8
	N (mg/人・日)	93.3	97.7	109.8	125	132	156	175	186	207	234	230	235	298
	P (mg/人・日)	344	370	439	517	626	649	707	725	782	798	885	960	592

汚濁正味係数 (表 22)

表-1-7 赤痢バクテリアの生理的特性

類 型		I		II		III			
環境 ならびに 栄養要素	生物	Hetero- sigma akashiwo	Rhodo- monas ovalis	Eutrexi- ella sp.	Exuvia- lla inlandica	Hetero- sigma inlandica	Peridi- nium hangoni	Polykri- kos schwartzii	Gymnodi- nium nelsoni
	最 適	16.5	13.1	10.2	14.0-18.5	6.6	13.1	9.2	11.0
水分濃度 (Cl%)	好適範囲	(12.5-18.3)	0.0 <	(8.0-17.0)	(10.6 <	(3.8 <	(8.0-18.0)	(7.6-14.0)	(5.0-12.5)
pH	最 適	7.5	8.5	7.5	9.0	8.5	8.0	8.5	8.5
	好適範囲	(6.9-8.5)	(7.8-9.0)	(6.5-8.5)	(7.7 <	(7.6 <	(7.5-8.4)	(7.7-8.8)	(7.4-8.8)
窒素源	最 適	NaNO ₃	NH ₄ Cl	NH ₄ Cl	NH ₄ Cl	NaNO ₃	有機窒	NH ₄ Cl	NaNO ₃
	好適濃度	<100mg/l	5-10mg/l	0.3mg/l	0.3mg/l	50-100mg/l	窒 素	0.3mg/l	(有機窒 素)
リン酸源	最 適	グリセリン 20mg/l	KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄		KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄
	好適濃度	20mg/l	0.5-1mg/l	0.3mg/l	0.3mg/l	10mg/l		30mg/l	1-3mg/l
ビタミン	要求	+	+	+	+	+	+	+	+
	B ₁₂ 好適濃度	10mg/l	20mg/l	10mg/l	10mg/l	10mg/l	10mg/l		20mg/l
	チアミン	-	+	+	- (?)	-	-	+	-
	生物活性物	-	+	+	- (?)	-	-	+	-
Ochro- monas				Escheri- chia	Euglena	Ochro- monas	Escheri- chia	Escheri- chia	Escheri- chia
生長促進物質			NH ₄ -N PO ₄ -P B ₁₂	・鉄 ・マンガン	・マンガン ・フリン ・鉄 ・プリン ・ピリミジン ・植物 ホルモン	・フリン ・ピリミジン	・酵母の自 己消化物 ・カゼインの 酵母抽出物 ・グルタミン酸 ・酵母抽出物 ・カゼイン分 解物	・酵母の自 己消化物 ・酵母抽出物 ・動物組織の 消化分 解物 ・カゼイン分 解物	・酵母の自 己消化物 ・酵母抽出物 ・動物組織の 消化分 解物 ・カゼイン分 解物 ・+土壌 抽出液

岩崎英雄 (文獻 28)

表-1-8 汚濁段階と栄養段階の比較

例	Saprobic-Stage 汚濁段階	Trophic-Stage 栄養段階
清潔な山泉水	katharob (清 水 性)	oligotroph (寡栄養性)
清潔な地下水	katharob (清 水 性)	oligotroph (寡栄養性)
セキヤ川	oligosaprob (寡汚濁性)	oligotroph (寡栄養性)
ハナ川 (ベトナム近郊)	β-mesosaprob (β 中濁水性)	eutroph (富栄養性)
下水処理場よりの排水を入れた養魚池	α-mesosaprob (α 中濁水性)	eutroph (富栄養性)
下 水 道	polysaprob (多汚濁性)	polytroph (多栄養性)
沼 沢・池 田	polysaprob (多汚濁性)	polytroph (多栄養性)
有機物を含む水	amicrob	amicrob (寡栄養性)

和 村 雄 三 (文獻 29)

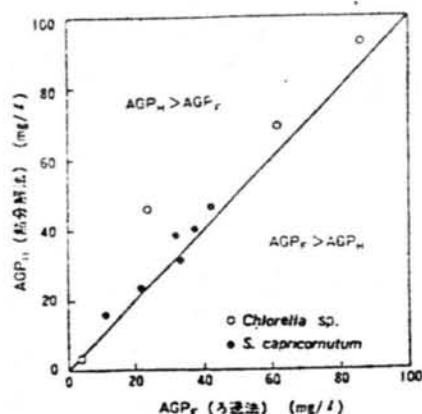


図-2-1-a 3過法, 熱分解法によるAGPの比較
(AGP<100) 須藤隆一ほか文献(13)

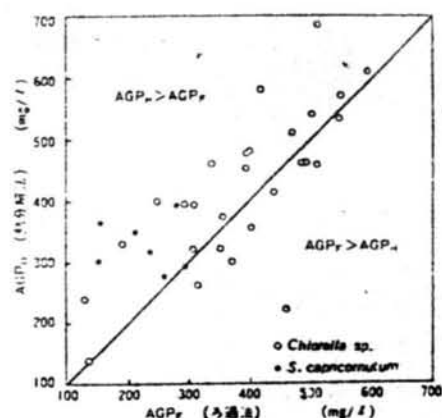


図-2-1-b 3過法, 熱分解法によるAGPの比較
(AGP>100) 須藤隆一ほか文献(13)

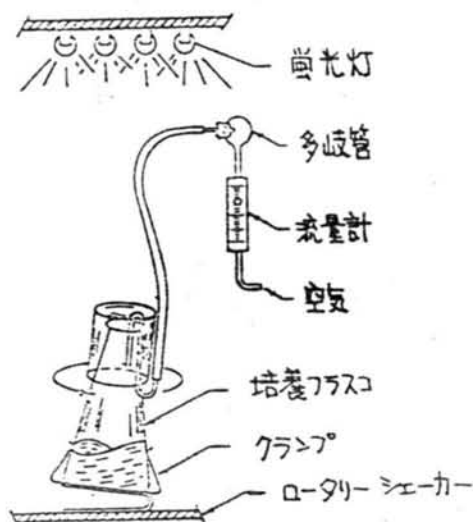


図-2-2 バッチ培養装置
Joint Industry/Government Task Force on Eutrophication
文(4)

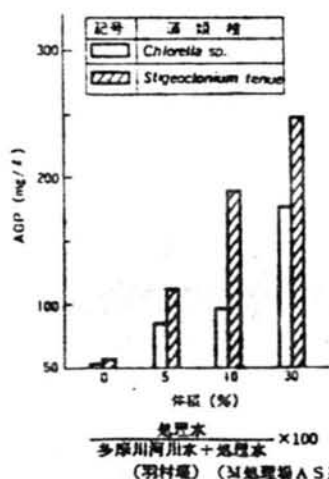


図-2-4 多摩川の富栄養化に対する処理の影響
須藤隆一ほか文献(43)

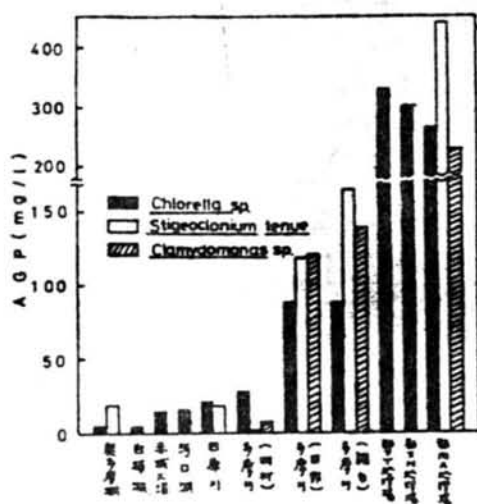


図-2-3 自然水, 活性汚泥処理水のAGP
須藤隆一ほか文献(43)

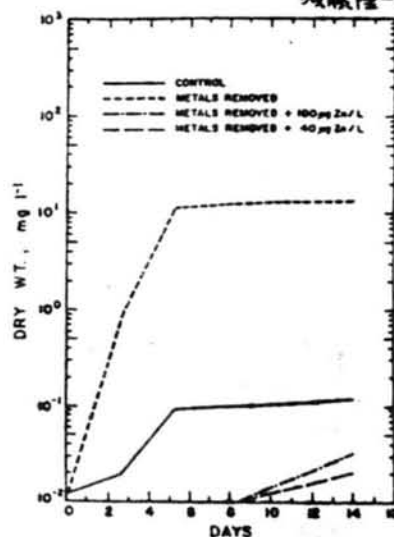


図-2-5 亜鉛の藻類増殖に対する影響
W.E. Miller et al. 文献(48)

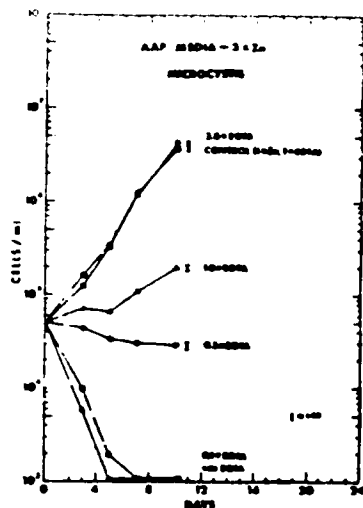


図-2-6 EDTAの濃度増進による影響
A.G. Payne 文獻49)

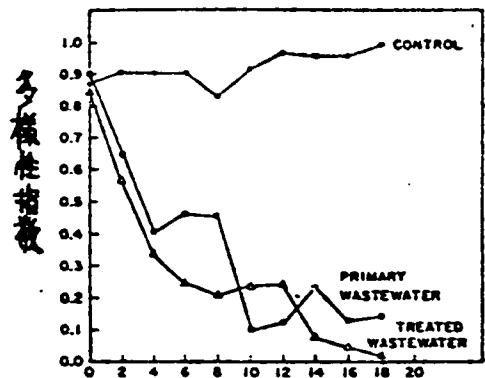


図-2-7 1次処理水と2次処理水による
多様性指数の変化
D. Mitchell et al. 文獻50)

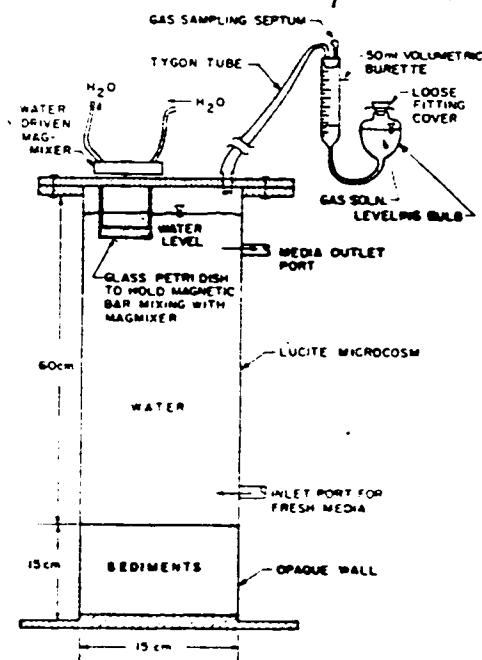


図-2-8 Microcosmによる実験装置
D. B. Porcella et al. 文獻52)

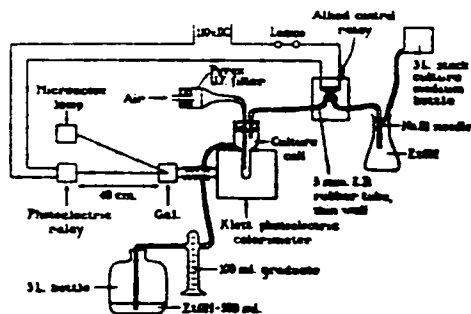
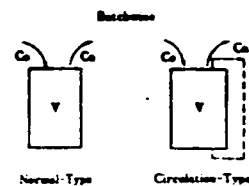
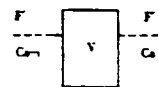


図-2-10 小容量マイクロスタート装置
J. H. Northrup 文獻56)



Serial-continuous-Type



Continuous

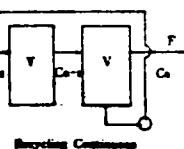
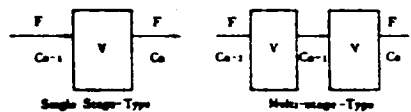


図-2-9 連続培養法のモデル図
寺三郎 文獻53)

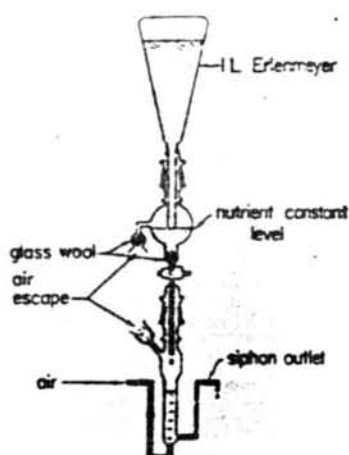


図-2-11 小容量ケモスタート装置
Boris Rotin 文献 57)

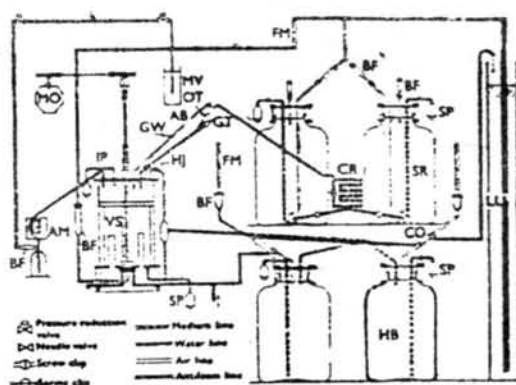


図-2-12 ケモスタート装置
R. Elsworth et al. 文献 60)

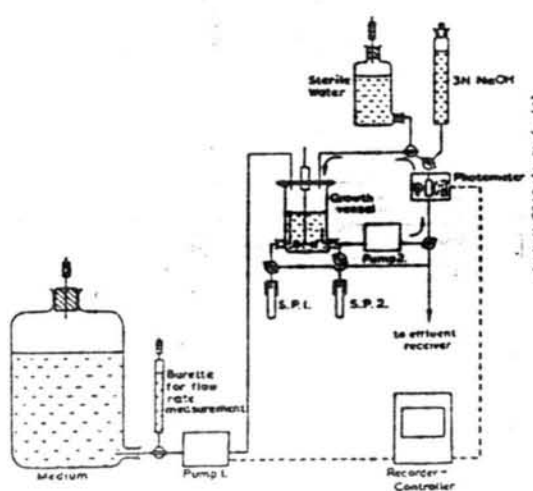


図-2-13 タービドスタート装置
D. Herbert et al. 文献 61)

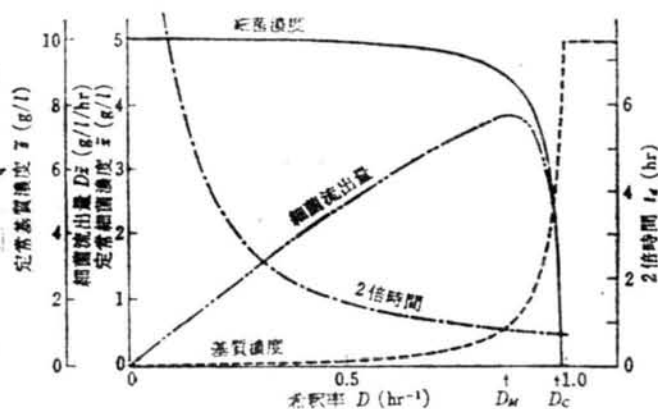


図-2-14 連続培養における定常状態の理論的關係
中島一郎ほか 文献 71)

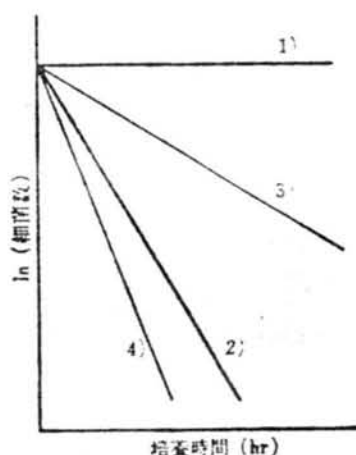


図-2-15 ケモスタートにおける菌濃度と培養時間
1) $A=0, \mu=D$, 2) $A=D, \mu=0$, 3) $A<D, \mu>0$, 4) $A>D, \mu<0$



図-2-16 *Anabaena variabilis*

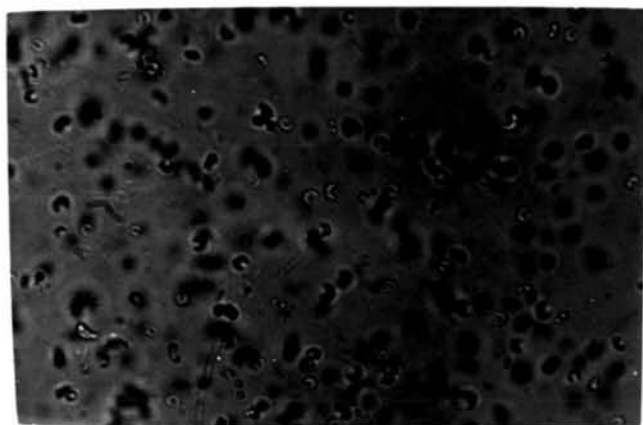


図-2-17 *Clasterium moniliferum*



図-2-18 *Selenastrum minutum*

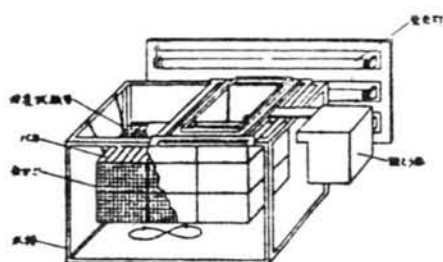


図-2-19 水平8の字振とう装置

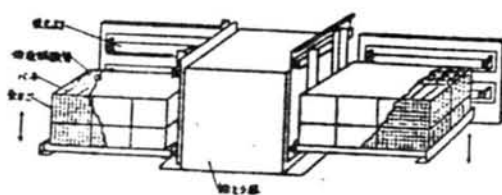


図-2-20 上下振とう装置

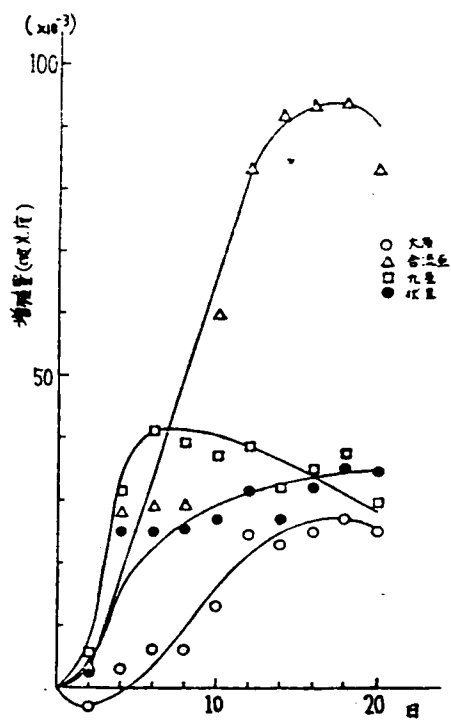


図-2-21 鴻川水系における増殖曲線

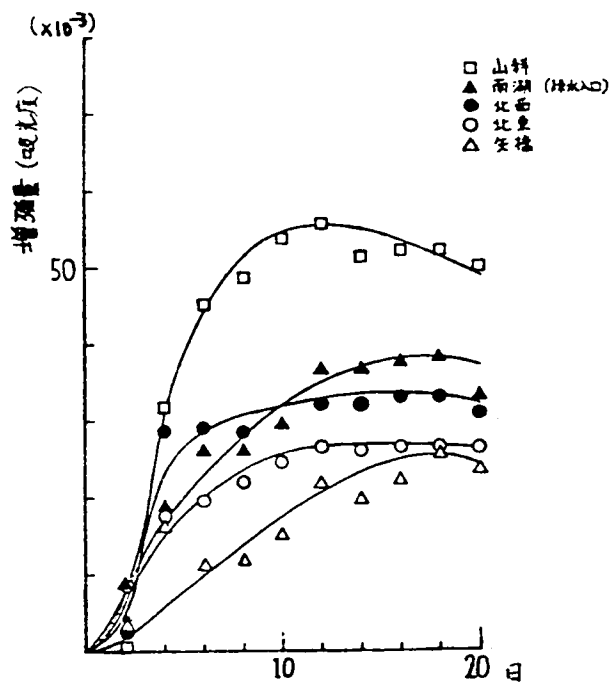


図-2-22 琵琶湖湖水における増殖曲線

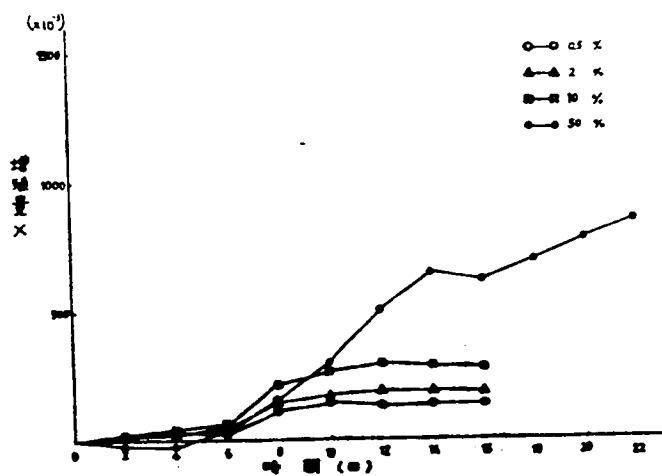


図-2-23 オートレーブ1次処理水によるAnabaena増殖量

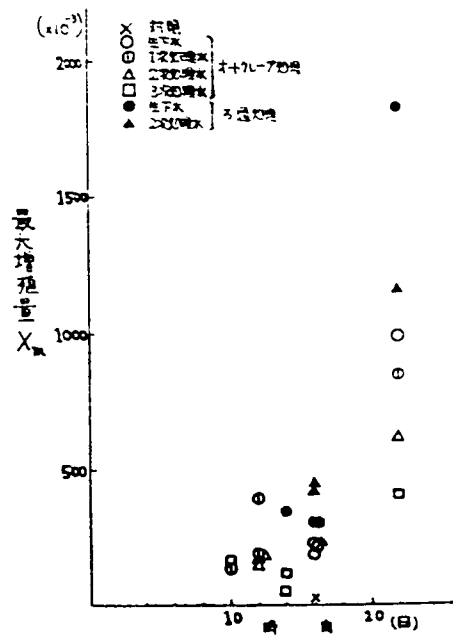


図-2-24 最大増殖日と最大増殖量との関係

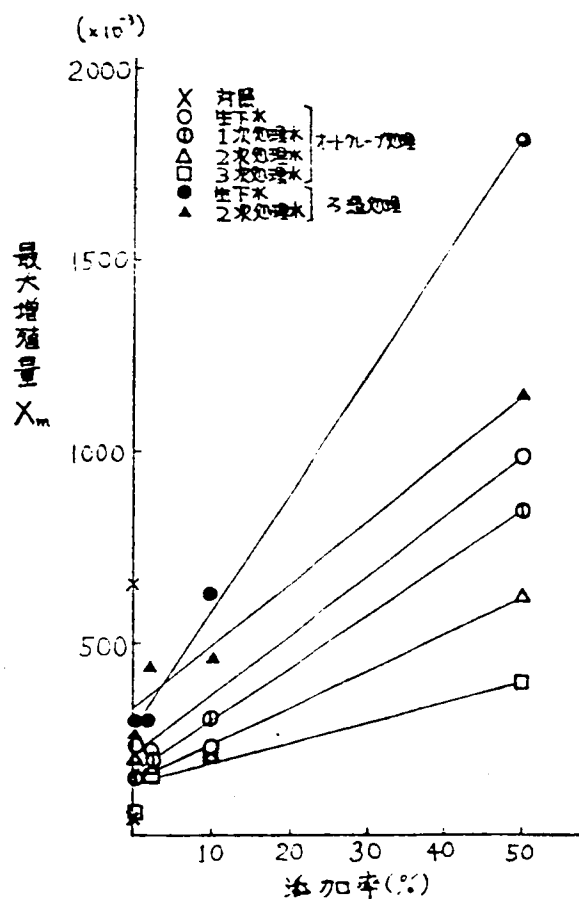


図-2-25 最大増殖量 X_m と添加率との関係

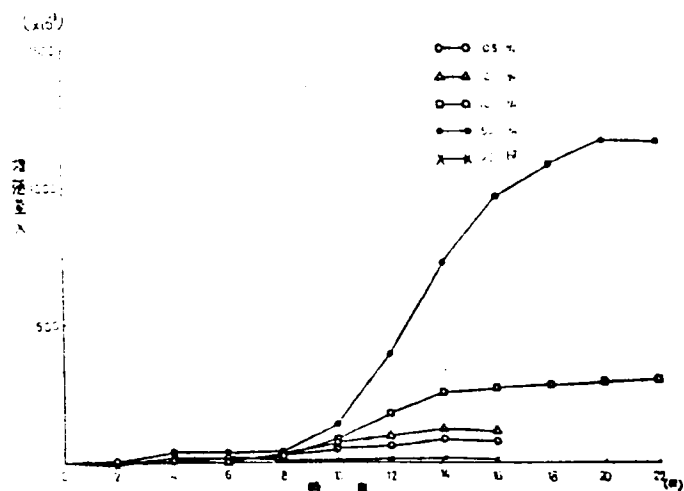


図-2-27 オートクレブ生下水添加による *Clostridium* 増殖

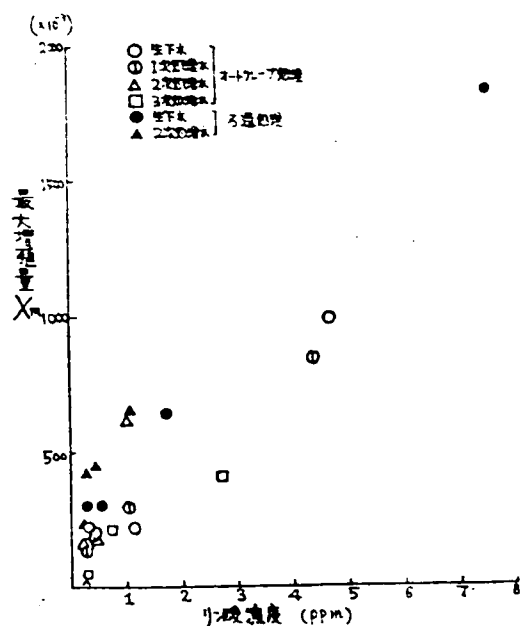


図-2-26 リノ酸濃度と最大増殖量 X_m との関係

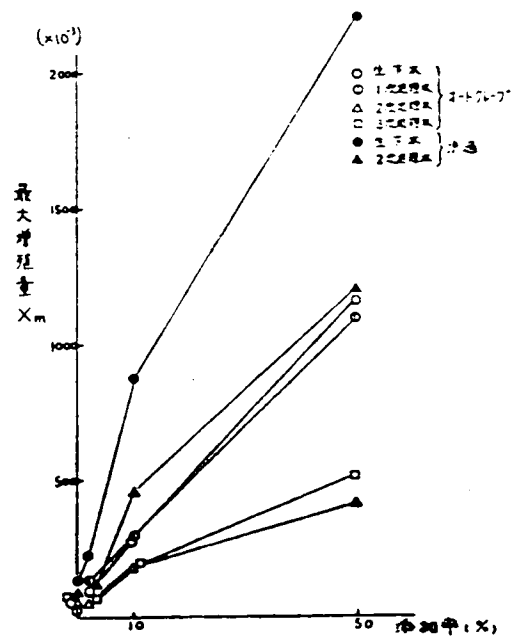


図-2-28 最大増殖量 X_m と添加率との関係

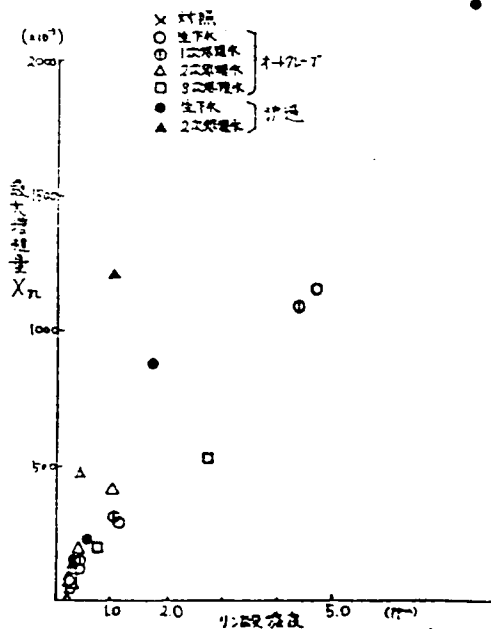


図-2-29 リン酸濃度と最大増殖量 X_m の関係

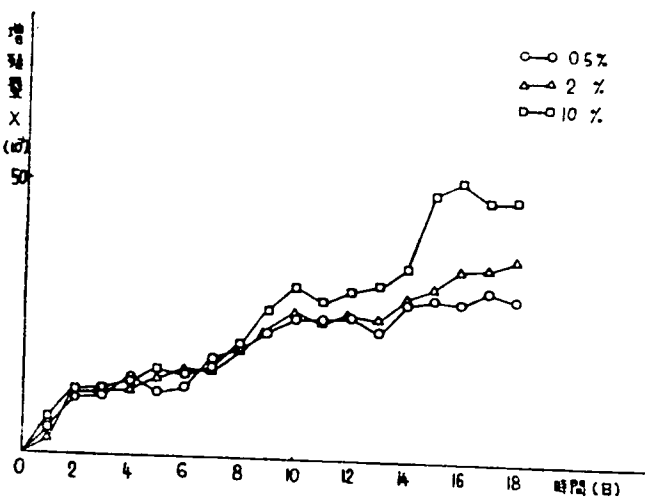


図-2-30 3週2次処理水添加による *Selenastrum* 増殖

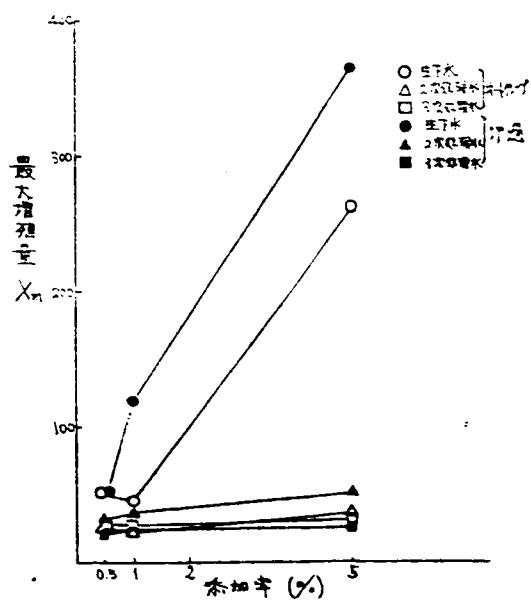


図-2-31 最大増殖量 X_m と濃度の関係

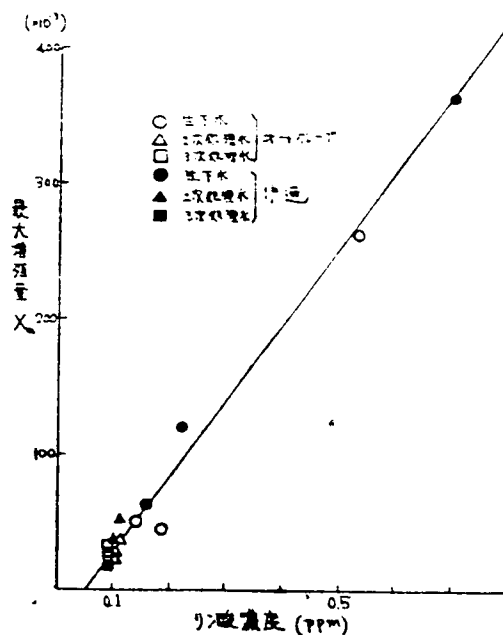


図-2-32 リン酸濃度と最大増殖量 X_m の関係

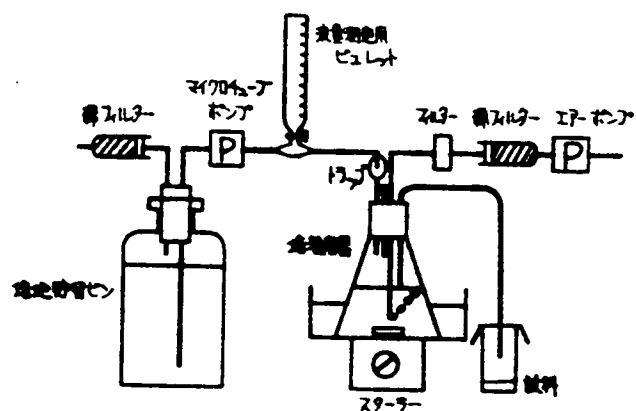


図-2-33 ケモスタート実験装置

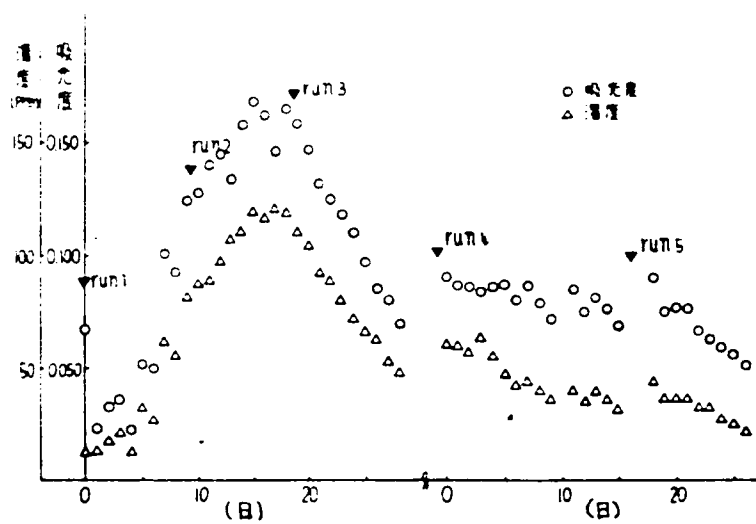


図-2-34 連続培養実験における濃度の変化

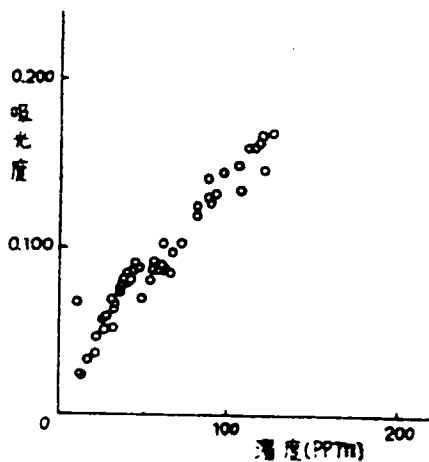


図-2-35 濃度と吸光度との関係

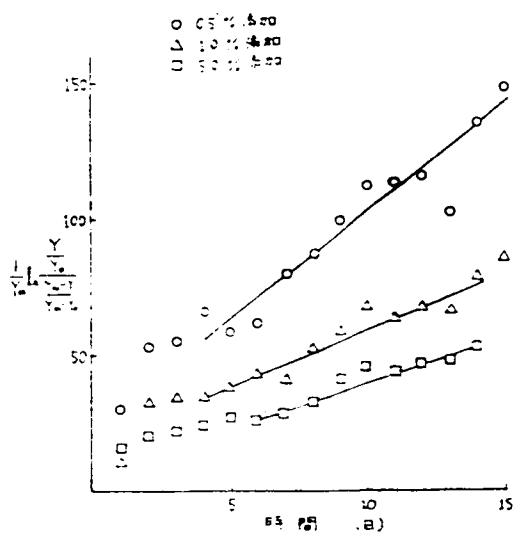


図-2-39 2% NaCl 水における(2-32)式

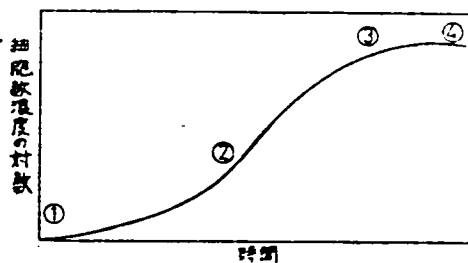


図-2-36 理論的バッチ増殖曲線

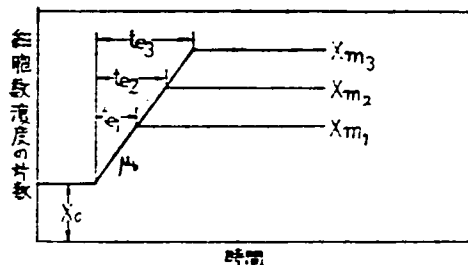


図-2-37 栄養塩による制限を受ける増殖

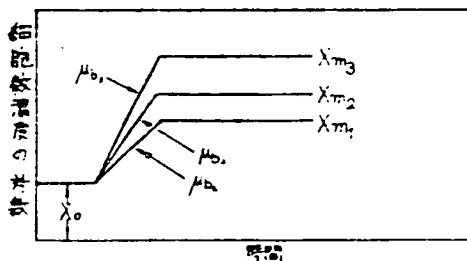


図-2-38 比増殖速度による制限を受ける増殖

表-2-1 AAMの培地組成

化合物	濃度 (mg/l)	元素	濃度 (mg/l)
NaNO ₃	25.500	N	4.200
K ₂ PO ₄	1.044	P	0.186
MgCl ₂	5.700	Mg	2.904
MgSO ₄ · 7H ₂ O	14.700	S	1.911
CaCl ₂ · 2H ₂ O	4.410	Ca	2.143
NaHCO ₃	15.000	Na	11.001
		K	0.469
微量元素			
化合物	濃度 (μg/l)	元素	濃度 (μg/l)
H ₂ BO ₃	185.520	B	32.460
MnCl ₂	264.264	Mn	115.374
ZnCl ₂	32.700	Zn	15.691
CoCl ₂	0.780	Co	0.354
CuCl ₂	0.009	Cu	0.004
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	7.260	Mo	2.878
FeCl ₃	96.000	Fe	23.051
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	300.000		

Environmental Protection Agency 文献 5)

表-2-3 湖水の AGP

	T-P (mg/l)	検出要素*	AGP (mg/l)
池田湖	0.005	Se	0.08
支笏湖	0.0085	Se	0.06
沼平湖	0.020	Se	0.23
ウトナイ湖	0.022	Se	0.11
奥多摩湖	0.05	C	5.0
白神湖	0.04	C	5.0
河口湖	0.04	C	10
市域六湖	0.06	C	15
琵琶湖	—	Se	4.0

* Se: Selenium, as selenite
C: Chloride sp.

岡田恒正ほか 文献 21)

表-2-4 微生物の化学組成式

微生物	化学組成式
細菌類	C ₅ H ₇ O ₂ N
菌類	C ₁₀ H ₁₇ O ₆ N
藻類	C ₆ H ₈ O ₂ N
原生動物	C ₇ H ₁₄ O ₂ N

R.E. McKinney 文献 83)

表-2-6 淡水性植物プランクトンの化学元素に対する最低必要濃度 (mg/l)

種	研究者	N	P	Fe	Ca	Mg	Na	SiO ₂
<i>Pediastrum boryanum</i>	Chu 25)	0.80	0.045	0.02	0.2	2.4	0.04	2.0
<i>Staurastrum paradoxum</i>	"	0.85	0.089	—	0.2	4.0	0.0	0.0
<i>Betryococcus Braunii</i>	"	0.35	0.089	—	0.02	0.0	0.04	0.04
<i>Nitzschia palea</i>	"	1.30	0.018	—	0.9	0.1	—	0.8
<i>Fragilaria crotonensis</i>	"	0.28	0.018	—	0.02	0.1	—	19.6
<i>Asterionella gracillima</i>	"	0.51	—	—	0.18	0.01	—	9.8
<i>Tabellaria flocculosa</i>	"	—	0.045	0.3	10.0	1.0	—	2.0
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	Rodhe 25)	5.0	0.2	0.04	0.0	0.1	—	9.8
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Cercliff et al. 26)	6.8	0.45	0.06	0.25	2.5	—	—

日本水産学会 文献 84)

表-2-2 湖沼、河川における藻類最大増殖量

	水温 (°C)	COD (mg/l)	全リン (mg/l)	全窒素 (mg/l)	藻類最大増殖量 (μg/l)
					<i>Chlorella</i> <i>Stigeoclonium</i>
日原川	17.0	13	0.07	1.41	20.5 19.3
奥多摩湖	24.0	23	0.05	0.11	4.5 17.7
市域六湖	22.5	30	0.06	—	14.8 —
河口湖	21.6	28	0.04	—	16.0 —

須藤隆一ほか 文献 9)

表-2-5 藻類中の窒素およびリン含有比率

藻類の種類	乾燥重量中の%	
	N	P
<i>Microcystis</i> sp.	9.27	0.52
<i>Anabaena</i> sp.	8.27	0.53
<i>Microcystis aeruginosa</i>	6.83	0.69
<i>Aphanizomenon</i> sp.	10.05	—
<i>Aphanizomenon</i> sp.	—	0.6
<i>Anabaena cylindrica</i>	6.95-9.0	—
<i>Oscillatoria</i> sp.	5.65-7.42	—
<i>Oscillatoria borealis</i>	7.45	1.28
<i>Anabaena</i> sp.	4.04	1.20
<i>Lyngbya hemensis</i>	7.46	1.07
<i>Spirogyra</i> sp.	3.81	—
<i>Chlorella</i> sp.	1.4-11.0	—
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.89-4.34	—
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	—	0.91-1.5
<i>Scenedesmus bijugatus</i>	4.2-6.1	0.53-1.8
<i>Stigeoclonium stagnatile</i>	6.52	1.89
<i>Calothrix</i> sp.	4.39	1.18
<i>Tribonema argenteum</i>	1.74-2.95	—
<i>Monodus subterraneus</i>	1.22-2.94	—

田中博子 文献 11)

表-2-7 藻類増殖に与える栄養塩類の影響

湖	対 照	高 濃 度 増 殖 量 (mg/l)						
		+N	+P	+C	+N and P	+N and C	+P and C	+N and P and C
Washink	0.11±0.03	0.16±0.01	1.89±0.34	0.15±0.02	5.08±0.10	0.19±0.10	2.41±0.24	11.94±1.43
Odell	1.52±0.18	6.00±0.96	1.92±0.23	2.37±0.18	9.99±1.59	5.96±1.54	2.25±0.45	9.45±2.07
Waldo	0.07±0.01	0.07±0.01	0.09±0.01	0.07±0.01	0.15±0.02	0.06±0.01	0.51±0.10	0.52±0.12
Lake of the Woods	0.70±0.01	0.08±0.01	0.96±0.07	0.10±0.03	1.15±0.18	0.12±0.00	1.72±0.37	3.93±0.15
Ten mile Lake	0.11±0.02	0.09±0.01	1.59±0.15	0.11±0.03	10.58±0.02	0.11±0.04	2.63±0.21	14.20±2.84
Diamond Lake	13.50±1.62	18.50±2.59	15.50±0.16	13.00±0.26	22.20±1.33	14.90±0.18	13.60±0.02	22.40±4.03
Triangle Lake	10.10±0.60	17.50±0.32	9.89±0.98	12.61±1.80	33.00±2.64	19.80±2.37	12.50±0.50	33.00±1.32
Tahkenitch	0.21±0.02	0.19±0.04	6.72±0.53	0.13±0.01	15.40±0.92	0.11±0.03	8.21±0.16	15.47±1.54

N 添加濃度: 1.0 mg N/l, P 添加濃度: 0.05 mg P/l, C 添加濃度: 10.0 mg C/l, 95%信頼限界

T.E. Maloney et al. 文獻 29)

表-2-8 窒素およびリンの添加実験

	対 照	N (1.0mg/l)	P (0.1mg/l)	N (1.0mg/l) + P (0.1mg/l)
大 沼	3.8	3.5	4.2	36.2
小 沼	3.5	4.3	3.1	42.3
十和田湖	0.12	0.17	0.43	35.5
田沢湖	0.30	0.27	0.93	36.2
十三湖	15.9	13.7	40.3	58.5
印旛沼	9.1	11.0	37.5	63.4

(接種生物: *Selenastrum capricornutum*, 予備処理: ろ過法)

須藤隆一 文獻 30)

表-2-9 最大増殖速度に与える処理水の影響

試料濃度 (%)	μ_{max} / 日			
	R	RI	I	II
1	0.61	0.70	0.62	0.37
10	0.88	0.79	0.89	0.53
50	0.95	0.76	0.56	0.80

E.J. Middlebrooks et al. 文獻 39)

R: Peno 造粒活性炭アトラント

I: Incline 多孔質エアレーショープラント

RI: Rに對した窒素とリンを加えたアトラント

II: Iに對した窒素とリンを加えたアトラント

表-2-10 下水と藻類増殖の関係

処 理 方 法	P (mgP/l)		高濃度増殖時間 (日)	20ml の培養液で得ら れる藻類量 (mg)
	水溶性 P	全 P		
生 下 水	7.3	12.6	8	0.7
ろ過液	7.3	8.2	8	0.6
ろ過液 砂 3in (7.6cm)	0.3	1.2	14	0.4
ろ過液 砂 ± 3in (7.6cm)	0.3	0.3	20	0.1
活性炭処理液	0.9	1.2	12	0.2

E.G. Srinath et al. 文獻 40)

表-2-11 連続培養の分類

1. 培養法 Cultivation method			
連続培養	非連続培養	連続培養	非連続培養
	Non-continuous	Continuous	Batch
連続培養	非連続培養	連続培養	非連続培養
	Non-continuous	Continuous	Batch
2. 培養器 Cultivation vessel			
連続培養	非連続培養	連続培養	非連続培養
	Non-continuous	Continuous	Batch
3. 培養液 Fermentation Media			
連続培養	非連続培養	連続培養	非連続培養
	Non-continuous	Continuous	Batch
4. 培養条件 Culture conditions			
連続培養	非連続培養	連続培養	非連続培養
	Non-continuous	Continuous	Batch
5. 培養装置 Cultivation apparatus			
連続培養	非連続培養	連続培養	非連続培養
	Non-continuous	Continuous	Batch

工学三冊 文庫 53)

表-2-13 Kratz-Myers 培地

KNO ₃	1.00	(g)
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.25	·
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0.025	·
Zn(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.165	·
K ₂ HPO ₄	1.00	·
Fe ₂ (SO ₄) ₃ · 6H ₂ O	0.004	·
* As solution	1.0	(%)
純水	1000	·

pH 8.0
田宮博ほか 文庫 11)

表-2-12 Detmer 改変培地

KNO ₃	1.0	(g/l)
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.01	·
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.25	·
K ₂ HPO ₄	0.25	·
NaCl	0.1	·
Agar	15.0	·
** Fe solution	1.0	(%)
* As solution	1.0	·

pH 8.0

** Fe solution

FeSO ₄ · 7H ₂ O	2.0	(g/l)
Conc. H ₂ SO ₄	4 drops	·

* As solution

MnSO ₄ · 7H ₂ O	2.500	(g/l)
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.222	·
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.079	·
H ₃ BO ₃	2.860	·
Na ₂ MoO ₄	0.021	·

田宮博ほか 文庫 11)

表-2-14 C 培地

Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0.15	(g/l)
KNO ₃	0.10	·
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.04	·
K ₂ Glycinate · 2H ₂ O	0.05	·
VB ₁₂	0.10	(%)
Biotin	0.10	·
Thiamine · HCl	0.01	(%)
* PIV metals	3.0	(%)
Tris	0.5	(%)

pH 7.5

* PIV metals

FeCl ₃ · 6H ₂ O	0.097	(g)
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.041	·
ZnCl ₂	0.005	·
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.002	·
K ₂ MoO ₄	0.004	·
Na ₂ EDTA	0.750	·
H ₂ O	500	(ml)

田宮博ほか 文庫 11)

表-2-15 リン酸, 2種の薬剤添加実験における実験条件

藻類	添加物	温度 (°C)	振とう	照度 (lux)	接種 (個/ml)
Anabaena	リン酸	21 ± 2	杵8字	1300	1.0 × 10 ³
	リン酸薬剤		回転		
Selenastrum	無リン酸薬剤		65 r.p.m.	1000	

表-2-16 培養条件

藻 類	添加液	温度	振とう法	照 度	接 種
<i>Anabaena</i>	生 下 水 1 次処理水	21±2°C	200rpm 上下	500lux	(オートクレープ) 1.5×10 ⁶ 個/ml (ろ過) 2.5×10 ⁶ 個/ml
<i>Closterium</i>	2 次処理水 3 次処理水		65rpm 水平 8 の字回転		2.0×10 ⁶ 個/ml
<i>Selenastrum</i>	生 下 水 2 次処理水 3 次処理水		200rpm 上下	1000lux	1.0×10 ⁶ 個/ml

表-2-19 琵琶湖、鴨川水系における最大増殖量

表-2-17 キヤプの種類と藻類増殖量

キヤプの種類	実験増殖量 X	標準偏差 σ
1) スクリューキヤプ	0.342	0.144
2) 2重アルミ板	0.315	0.065
3) テーブル型	0.356	0.014
4) スクリューキヤプ (セニールタイプ)	0.053	0.027
5) ノラフィル	0.056	0.014
6) スクリューキヤプ (パッキング)	0.049	0.017

試料および添加濃度		最大増殖量 ×10 ³
地 点	大 原	27
	合渡点	93
	九 条	41
	伏 見	35
	山 科	55
	南 瀬 (取水入口)	38
	矢 橋	26
	今 津 (北 西)	33
	長 浜 (北 東)	27
濃 度	V. B ₁₂ 0.01g/l	32
	0.1 g/l	32
	1.0 g/l	34
	NH ₄ Cl 0.1ppm as N	42
	1.0ppm as N	32
	10.0ppm as N	32
	KNO ₃ 0.1ppm as N	32
	1.0ppm as N	39
濃 度	10.0ppm as N	47
	Ca(HCO ₃) ₂ 30.0ppm	35
	酵母エキス 10.0ppm	47
	50.0ppm	1049

表-2-18 琵琶湖、鴨川水系の水質

地 点	pH	アルカリ度	NH ₄ -N	NO ₃ -N	ケルダールN	T-N*	P	T-P	TOC
山 科	7.5	29.5	0	0.02	7.99	8.01	0.01	0.16	1.07
大 原	7.4	12.6	0	0.32	2.19	2.51	0.03	0.06	0.27
合 渡 点	7.3	32.3	0.26	1.28	3.92	5.20	0.41	0.52	2.09
九 条	9.0	29.6	0.03	0.98	3.08	4.06	0.49	0.44	2.57
伏 見	7.3	32.0	0.31	0.93	5.23	6.16	0.44	0.47	2.56
南瀬 (取水入口)	7.4	28.0	0	0.27	1.96	2.23	0.01	0.05	0.94
矢 橋	7.2	34.1	0.26	0.47	3.92	4.39	0.12	0.17	1.88
今 津 (北西)	7.2	27.2	0.24	0.67	2.76	3.43	0.03	0.14	0.94
長 浜 (北東)	7.4	29.2	0.01	0.19	0.89	1.08	0.01	0.05	0.84

* T-N: NO₃-N + NO₂-N

(ppm)

表-2-20 湖水、リン酸系薬剤溶液の
リン酸、全リン酸濃度

	リン酸濃度(PPM)	全リン酸濃度(PPM)
湖 水	0.06	0.06
リン酸溶液	2.00	2.00
リン酸系薬剤	1.97	2.40
無リン酸系薬剤	0.06	0.58

(※) 測定せず

表-2-22 最大増殖量 および 標準偏差

添加液	添加濃度 (PPM)	最大増殖量 X_m (個/μl)	標準偏差 σ (個/μl)
コントロール	0	2.7	0.47
リン酸系液	0.01	3.3	0.47
	0.03	3.3	0.94
	0.1	4.0	1.63
	0.3	3.7	1.70
	1	3.3	0.47
	3	3.3	1.25
	10	5.3	1.70
	(リン酸系液)		
リン酸系液 溶液	0.1	2.7	0.47
	1	2.7	1.70
	10	4.0	0.47
	100	4.3	1.25
	(無リン酸系)		
無リン酸系 薬剤溶液	0.1	4.0	2.16
	1	4.5	0.50
	10	4.3	0.47
	100	9.7	3.50
	(無リン酸系)		

表-2-23 試料の リン酸濃度

前処理法	試 料	リン酸濃度 (PPM)
オートクレーブ	河 川 水	0.3
	生 下 水	9.1
	1 次 処 理 水	8.5
	2 次 処 理 水	1.8
	3 次 処 理 水	5.2
3 週	生 下 水	14.9
	2 次 処 理 水	1.8

表-2-21 最大増殖量 および 標準偏差

添加液	添加率 (%)	最大増殖量 X_m ($\times 10^3$)	標準偏差 σ ($\times 10^3$)
コントロール	0	21.0	5.1
	0.5	25.0	1.6
	1.0	21.0	4.0
	5.0	29.0	4.5
リン酸系液	10.0	32.3	5.2
	0.5	31.3	1.7
	1.0	30.0	2.4
	5.0	29.3	5.2
リン酸系薬剤溶液	0.5	29.7	3.7
	1.0	29.7	7.8
	5.0	30.0	5.0

表-2-24 実験(1)における最大増殖量、
標準偏差、変動係数

	添加率	X_m (個/μl)	X_m	σ	C	
control	0	16	29.7	5.2	10.8	
オートクレーブ	生下水	0.5	16	223.0	30.0	13.5
		2.0	16	199.3	30.4	15.3
		10	16	220.7	22.0	10.0
		50	22	985.0	156.1	16.8
	1次処理水	0.5	10	142.7	60.3	42.3
		2.0	12	189.0	21.9	11.6
		10	12	295.0	39.6	13.5
		50	22	842.7	181.5	21.5
	2次処理水	0.5	12	167.7	34.9	20.8
		2.0	12	159.3	27.9	19.5
		10	12	178.7	45.1	25.2
		50	22	612.0	48.8	2.0
	3次処理水	0.5	14	51.7	14.3	27.9
		2.0	10	163.0	1.0	0.6
		10	14	214.0	9.0	4.2
		50	22	408.7	81.4	19.9
3週	生下水	0.5	16	302.3	116.2	38.4
		2.0	16	302.0	52.0	19.2
		10	14	640.0	36.0	5.6
		50	22	1822.0	71.9	3.9
	2次処理水	0.5	16	232.0	46.3	20.0
		2.0	16	422.3	87.5	20.9
		10	16	441.0	116.1	26.3
		50	22	1156.0	186.6	16.1

X_m : 最大増殖量
 σ : 標準偏差
 C: 変動係数 ($\sigma/X_m \times 100$)

表-2-25 実験(2)における最大増殖量、標準偏差、変動係数

	添加量	添加率	X_m (10 ³)	X_m (10 ³)	σ (10 ³)	C
control		0	6	20.3	7.4	36.5
オートクレープ	生水	0.5	14	83.0	34.3	41.3
		2.0	14	121.0	22.6	18.7
		10	22	299.7	43.3	19.4
		50	20	1168.7	151.9	13.0
	1次処理水	0.5	14	57.0	7.1	12.5
		2.0	16	145.0	34.3	23.7
		10	20	302.7	22.4	9.4
		50	16	1103.7	102.5	9.3
	2次処理水	0.5	16	73.7	7.7	10.4
		2.0	14	66.3	20.3	30.6
		10	22	193.3	24.6	12.7
		50	20	413.3	84.0	20.3
ろ過	3次処理水	0.5	14	56.0	25.6	45.7
		2.0	14	92.7	25.3	29.3
		10	20	200.7	72.5	36.1
		50	20	533.3	98.0	18.4
	生水	0.5	16	146.3	50.5	36.5
		2.0	16	229.3	72.7	31.7
		10	18	846.0	280.0	31.6
		50	22	2211.3	50.4	23
	2次処理水	0.5	14	102.3	23.0	22.5
		2.0	14	130.0	21.6	16.6
		10	22	473.7	134.9	28.5
		50	22	1209.3	112.4	9.3

X_m : 最大増殖量
 σ : 標準偏差
 C : 変動係数 ($C = \frac{\sigma}{X_m} \times 100$)

表-2-28 連続培養におけるパラメーター

run	D	-A	μ	R_g	G
1	0.100	0.2116	0.3120	0.135	2.2
2	0.050	0.0233	0.0733	0.032	9.5
3	0.125	-0.0859	0.0391	0.017	17.7
4	0.050	-0.0121	0.0379	0.016	18.3
5	0.075	-0.0825	-0.0075	-0.083	—

D: 希釈率 (1/日)
A: 光出し速度 (1/日)
 μ : 比増殖速度 (単位時間) (1/日)
 R_g : 比増殖速度 (単位時間) (1/日)
G: 平均世代時間 (日)

表-2-26 河水水、添加水のリン酸濃度およびTOC値

添加液	リン酸濃度 (ppm)	TOC (ppm)
河川水	0.10	—
生水	8.75	147.0
2次処理水	0.38	11.5
3次処理水	0.01	9.0
ろ過	—	—
生水	12.15	34.0
2次処理水	0.30	15.5
3次処理水	0.06	10.5

表-2-27 実験(3)における最大増殖量、標準偏差、変動係数

処理水	添加率 (%)	X_m (10 ³)	X_m ($\times 10^3$)	σ ($\times 10^3$)	C		
対照	0	17	12.6	3.3	17.7		
オート クレープ 処理	生水	0.5	17	51.4	21.9	42.6	
	下水	1.0	14	44.7	22.9	51.2	
	水	5.0	14	262.4	83.3	31.7	
	2次処理水	0.5	15	25.6	3.7	14.5	
	1.0	15	23.0	4.5	19.6		
	5.0	17	36.0	11.4	31.7		
	3次処理水	0.5	18	28.0	7.5	26.8	
	1.0	18	26.3	6.6	25.1		
	5.0	18	32.0	14.4	45.0		
	ろ過 処理	生水	0.5	17	63.3	6.0	9.5
		下水	1.0	17	120.4	19.0	15.8
		水	5.0	15	363.7	94.5	26.0
2次処理水		0.5	17	31.5	6.5	20.6	
1.0		18	37.3	8.4	22.5		
5.0		16	51.0	19.6	34.5		
3次処理水		0.5	17	20.6	1.2	5.8	
1.0		17	22.7	3.9	17.2		
5.0		15	22.5	1.5	6.7		

X_m : 最大増殖量 (単位時間)
 σ : 標準偏差
 C : 変動係数 ($C = \frac{\sigma}{X_m} \times 100$)

表-2-29 吸光度および温度に関する相関係数

run	吸光度-温度	温度-吸光度	温度-温度
1	0.908	0.900	0.997
2	0.739	0.897	0.800
3	-0.995	-0.995	0.996
4	-0.777	-0.912	0.794
5	-0.909	-0.965	0.990

表-2-30 藻類の比増殖速度 k_g (常用対数にお)

種 名	k_g	測定 の 条 件
<i>Anabaena cylindrica</i>	0.32	23°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>A. cylindrica</i>	0.75	25°C; 明所, CO_2 , N_2
<i>A. variabilis</i>	0.7	25°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>Anacyclus induratus</i>	4.2	30°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>Chlorocella ellipsoidea</i>	1.2	25°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>C. pyramidalis</i>	0.85	25°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>C. pyramidalis</i>	0.40	25°C; 暗所, グルコース, NO_3^-
<i>C. pyramidalis</i>	0.21	25°C; 暗所, 酢酸, NO_3^-
<i>C. vulgaris</i>	0.49	25°C; 明所, グルコース, NH_4NO_3
<i>C. vulgaris</i>	0.29	25°C; 暗所, グルコース, NH_4NO_3
<i>Euglena gracilis</i>	0.60	25°C; 明所, CO_2 , NH_4^+
<i>E. gracilis</i>	0.25	25°C; 暗所, 酢酸, NH_4^+
<i>E. gracilis</i> var. <i>bacillaris</i>	0.42	25°C; 明所, CO_2 , NH_4^+
<i>E. gracilis</i> var. <i>bacillaris</i>	0.42	25°C; 暗所, 酢酸, NH_4^+
<i>Nostoc muscorum</i>	0.5	25°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>Proocentrum mucosum</i>	0.20	18°C; 明所, 海水, 土壌浸出液
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0.88	25°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>S. costatus</i>	0.47	24.5°C; 明所, CO_2 , NO_3^-
<i>S. costatus</i>	0.21	24.5°C; 暗所, グルコース, NO_3^-
<i>Tolypothrix tenuis</i>	0.80	32°C; 明所, CO_2 , NO_3^-

田宮 博 (ほか 文献 11)

表-2-31 実験(3)における最大比増殖速度

光強度	光飽和率 (%)	最大比増殖速度 μ_m (1/日)
対 照	0	0.322
オートクレープ処理	生 0.5	0.252
	下 1.0	0.227
	水 5.0	0.362
	2 次 0.5	0.355
	水 1.0	0.426
	5.0	0.263
	3 次 0.5	0.302
	水 1.0	0.232
	5.0	0.209
	生 0.5	0.287
	下 1.0	0.345
	水 5.0	0.367
	2 次 0.5	0.304
	水 1.0	0.230
	5.0	0.275
3 週 処理	0.5	0.220
	1.0	0.147
	5.0	0.161

表-2-32 実験(3)における増殖速度定数

処理	光強度	光飽和率 (%)	増殖速度定数 k (1/日)
対 照	0		463
オートクレープ処理	生 0.5		229
	下 1.0		226
	水 5.0		559
	2 次 0.5		267
	水 1.0		260
	5.0		262
	3 次 0.5		261
	水 1.0		245
	5.0		280
3 週 処理	生 0.5		267
	下 1.0		285
	水 5.0		465
	2 次 0.5		249
	水 1.0		286
	5.0		164
	3 次 0.5		191
	水 1.0		200
	5.0		197

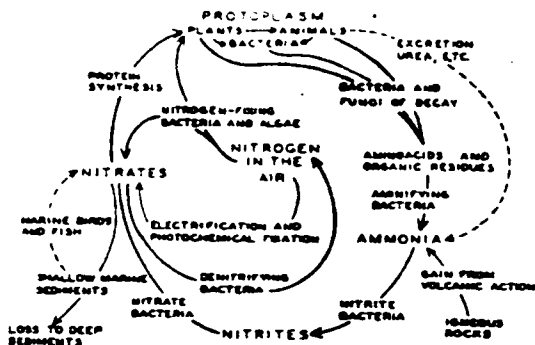


図-3-1 窒素の循環
E.P. Odum 文獻 1)

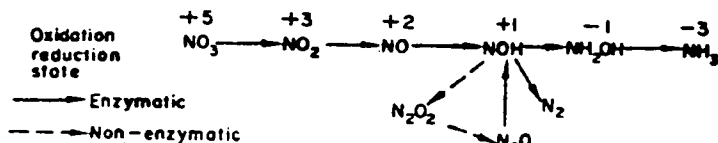


図-3-2 窒素の代謝
R.N. Dawson et al. 文獻 2)

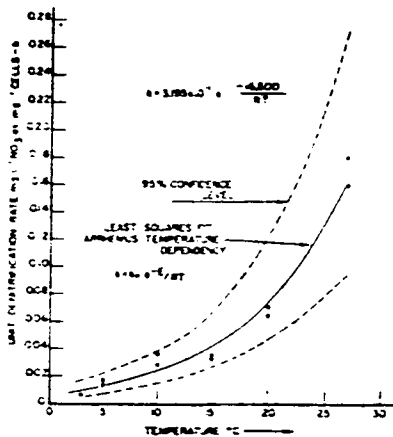


図-3-4 脱窒素速度の温度依存性
R.N. Dawson et al. 文獻 2)

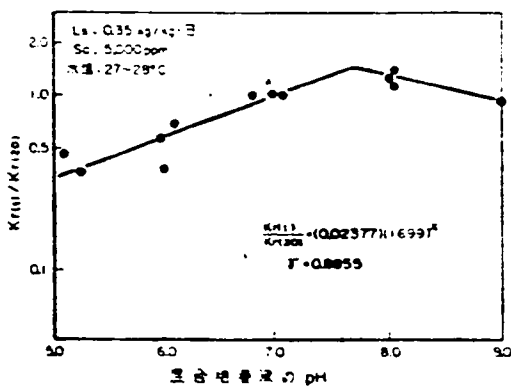


図-3-6 pH と $K(t)/K(20)$
文獻 2)

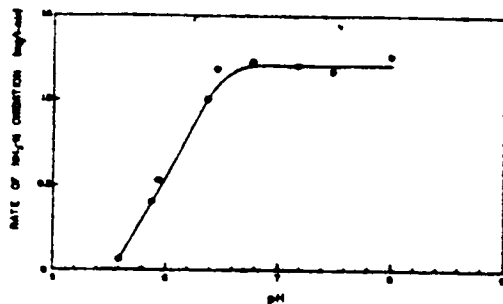


図-3-3 pH と $K(t)/K(20)$
A.L. Downing 文獻 5)

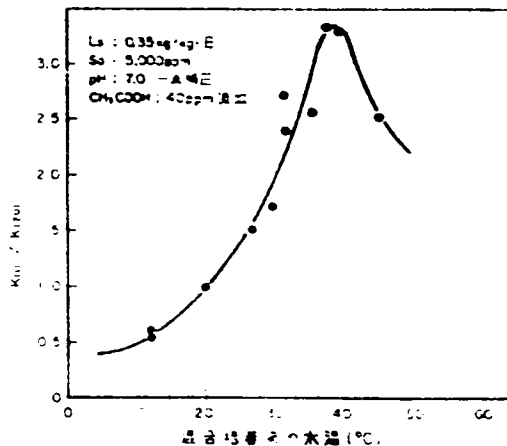


図-3-5-a 水温と $K(t)/K(20)$
文獻 2)

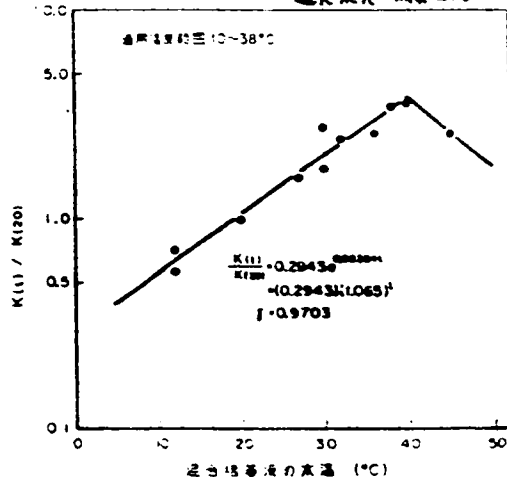


図-3-5-b 水温と $K(t)/K(20)$
文獻 2)

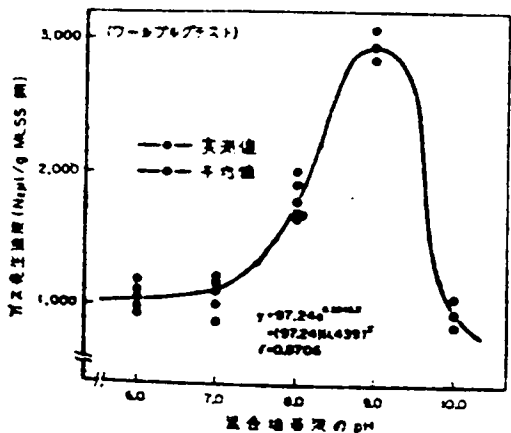


図-3-7 pHと脱窒素活性
速水泰典 文献(20)

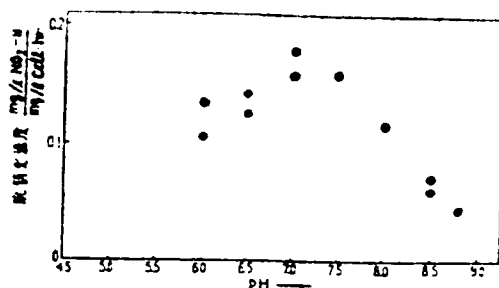


図-3-8 pHと脱硝化速度
R.N. Danson 文献(27)

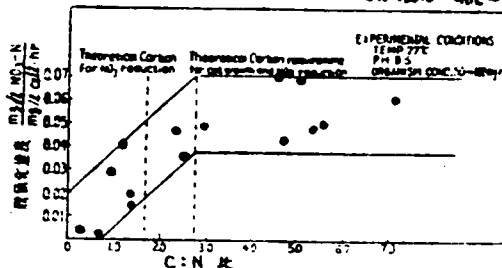


図-3-9 C:Nと脱硝化速度
R.N. Danson 文献(27)

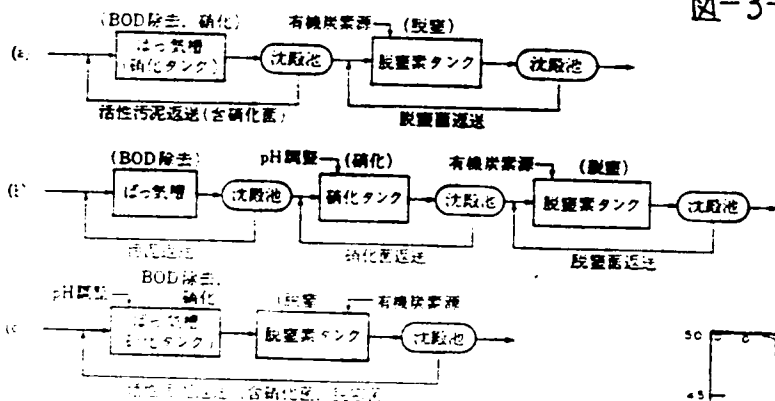


図-3-10 生物学的硝化脱窒プロセスのフローシート
細健 文献(34)

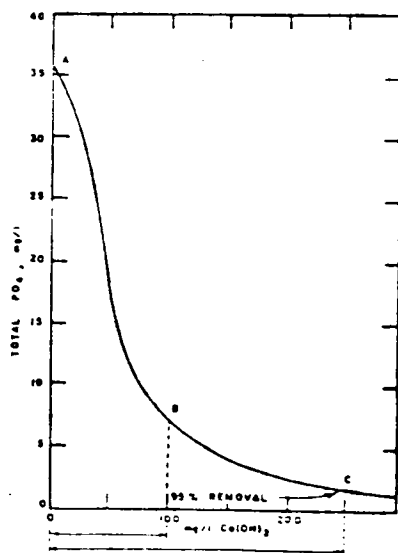


図-3-11 下水からのリン除去曲線
L.A. Schmid 文献(41)

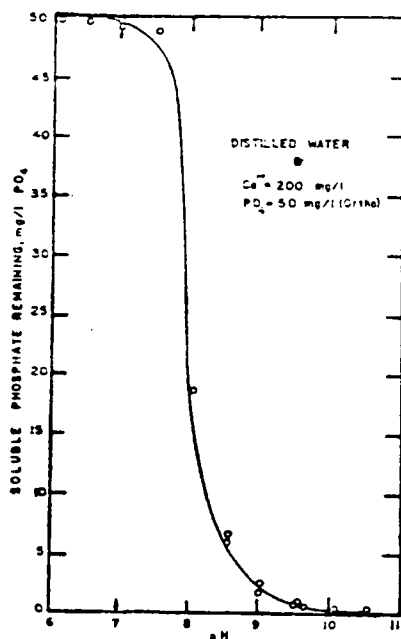


図-3-12 pHと残留リン酸
L.A. Schmid 文献(41)

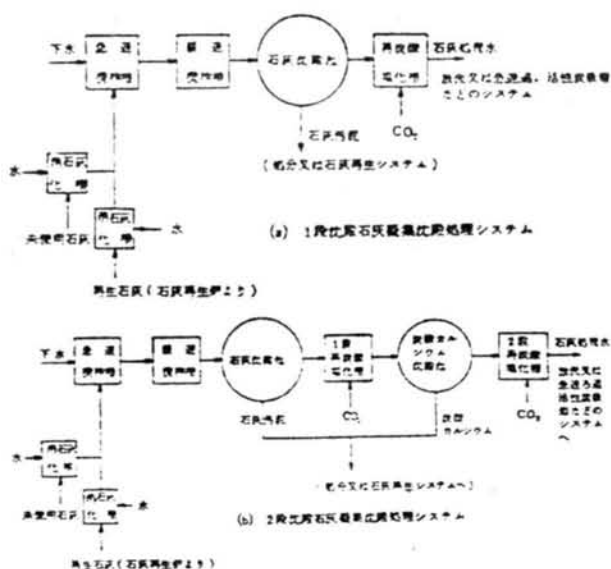


図-3-13 石灰凝集沈降の処理システム
(水処理 文庫50)

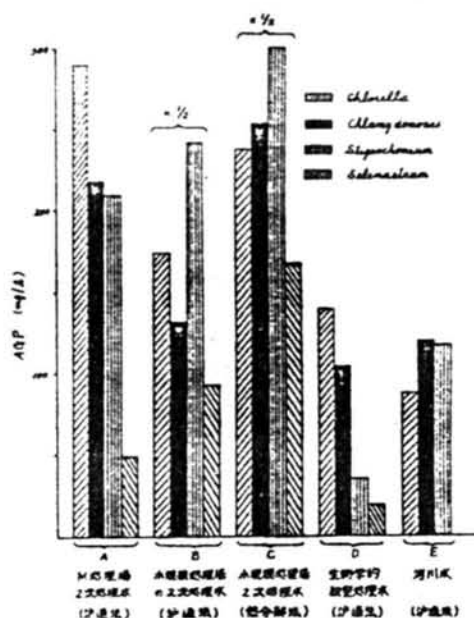


図-3-14 藻類の種類によるAGPの差
(水処理 文庫61)

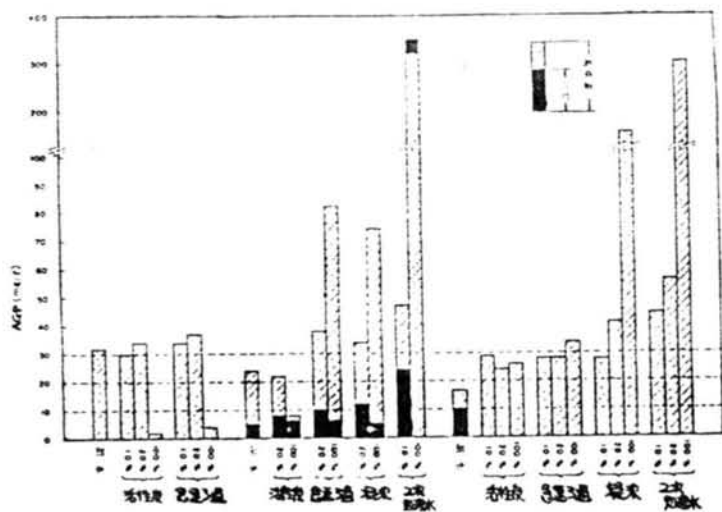


図-3-15 湖水のAGPにおよぼす脱リン処理水の影響
(Chlorella sp.) (岡田光正ほか 文庫62)

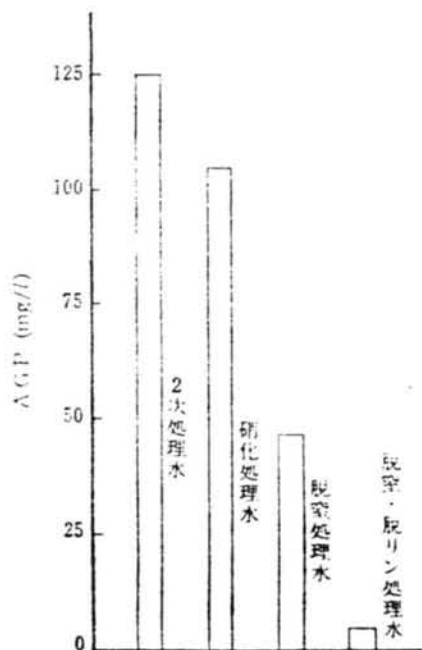
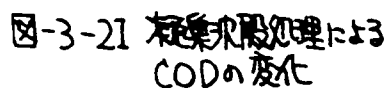
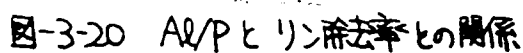
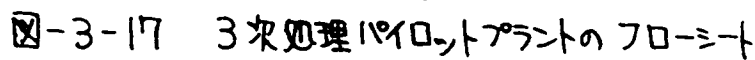


図-3-16 都市下水の脱窒、脱リンによるAGP
(水処理 文庫64)



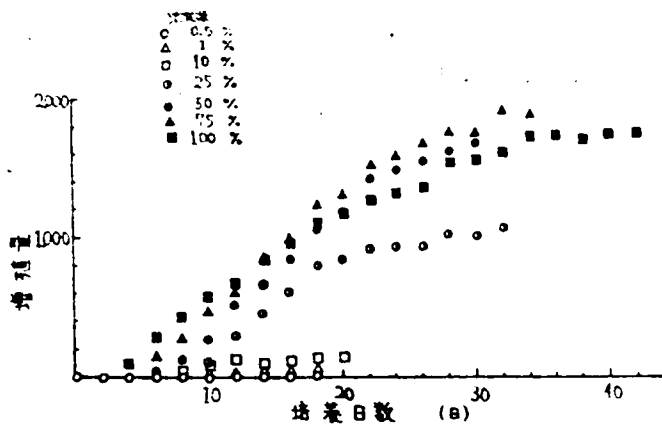


図-3-22 2次処理水添加による藻類増殖量

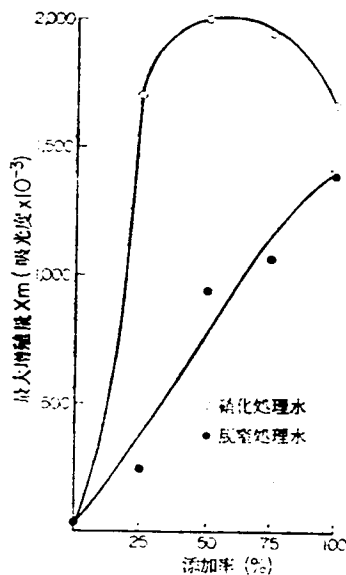


図-3-24 硝化処理水、脱窒処理水の添加率と最大増殖量の関係

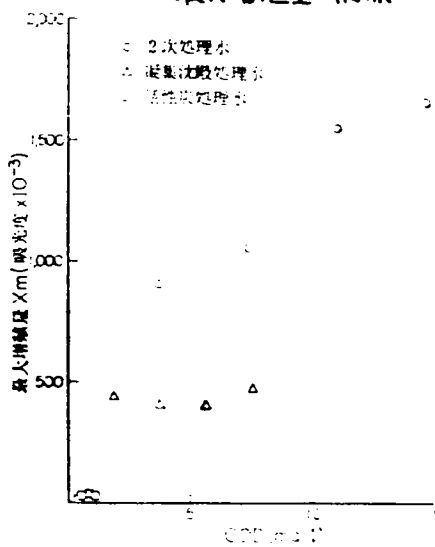


図-3-26 COD濃度と最大増殖量との関係

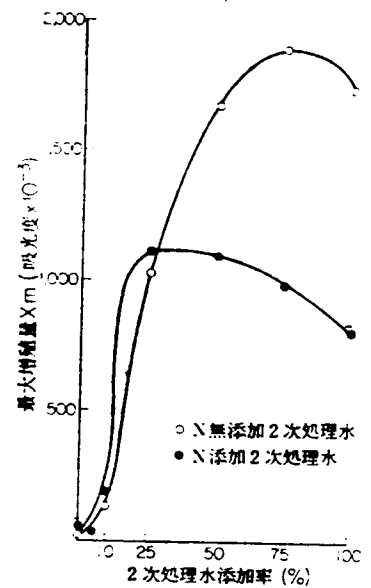


図-3-23 2次処理水添加率と最大増殖量との関係

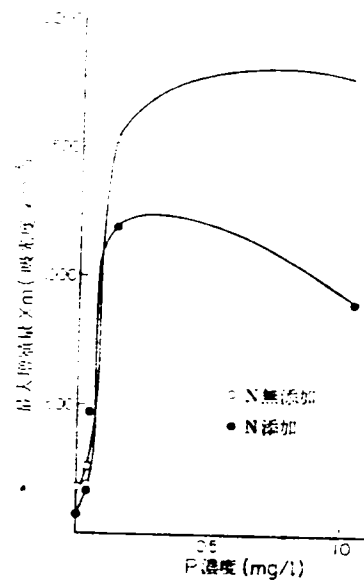


図-3-25 硝化処理水へのリン再添加による効果

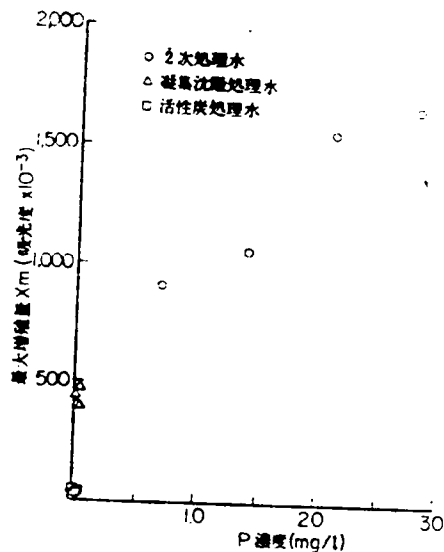


図-3-27 リン濃度と最大増殖量の関係

表-3-1 3段階生物処理による硝化、脱窒プロセスの設計操作因子¹⁾

処 理	要 点	リアク ター の型	エアレ ーション の方法	設 計 因 子	θ_c (a) (day)	θ (b) (hr)	MLVSS (mg/l)	pH	温度 (c)
有機性炭素 化合物を好 氣的に分解 する	完全 混合	空 気 または 純酸素	2~5	1~3	1.500 ~3.000	6.5 ~8.0	1.00 ~1.03		
アンモニア 性Nおよび 硝酸性N への硝化	一過式	同 上	10~20	0.5 ~3	1.000 ~2.000	7.4 ~8.6	1.08 ~1.10		
硝酸性Nを 脱窒的条件 下でN ₂ ガス 等に還元	一過式 (攪 拌 をとも なう)	—	1~5	0.2 ~2	1.000 ~2.000	6.5	1.14 ~1.16		

- (a) θ_c : 微生物の平均停留時間
(b) θ : 曝気時間
(c) Van't Hoff-Arrhenius 式の
反応速度定数

合田健 編(6)

表-3-2 脱窒速度データ

Source	Organisms	Temperature (°C)	Specific rate (mg l ⁻¹ NO ₃ as N h ⁻¹ (mg l ⁻¹) ⁻¹)
PICHONNY and D'ORMAND (1961) ³⁰⁾	<i>Micrococcus denitrificans</i>	22	0.056
CHANG and MOORE (1962) ³¹⁾	<i>Micrococcus denitrificans</i>	22	0.029
MULBARGER (1970) ³²⁾	Activated sludge	9	0.008
MOORE and SCHROEDER (1967) ³³⁾	Activated sludge	22.5	0.0247
MESCHNER and WUHAMANN (1965) ³⁴⁾	Mixture of 6 bacterial species	25	0.12
ECKENVELDER and BALAKRISHNAN (1968) ³⁵⁾	Activated sludge	20	0.0007-0.011
JOHNSON and SCHROEDER (1964) ³⁶⁾	Activated sludge	20	0.0005-0.009

R.N. Dawson et al. 文献(2)

表-3-3 Al:Pのモル比とリン除去率

除去率 (%)	Al:P		硫酸アルミニウム:P
	モル比	重量比	重量比
75	1.38:1	1.2:1	13:1
85	1.72:1	1.5:1	16:1
95	2.3:1	2.0:1	22:1

表-3-4 バッチ培養における藻類増殖量による比較

添加物	添加濃度		
	0.1 %	1.0 %	10 %
生下水	302.4	453.6	51.4
1次処理水	324.8	455.8	1074.4
2次処理水	366.4	436.2	1004.8
3次処理水	338.0	753.6	78.8

E.J. Middlebrooks et al. 文献55)

表-3-6 3次処理水のリン再添加による藻類増殖量

リン濃度(ppm)	藻類増殖量 (CalD/mg)
0	3,718
0.02	213,136
0.04	318,196
0.06	643,645

T.E. Maloney et al. 文献57)

表-3-7 CaO添加による3次処理の効果

CaO mg/l	PH	残存 T-P mg/l	除去率 %	残存 PO ₄ -P mg/l	除去率 %	AGP (70℃以上) mg/l
0	6.8	1.70	—	1.60	—	266
150	10.8	0.64	62.4	0.54	66.2	178
300	11.6	0.16	90.6	0.10	93.7	35
500	12.0	0.10	94.1	0.07	95.6	10

森忠洋ほか 文献60)

表-3-5 Shagawa湖への栄養塩添加による藻類増殖量

添加物	藻類の乾燥重量(mg/l)
無添加	10.01
1.0mg N/l	9.67
0.06mg P/l	10.34
20.0mg C/l	9.66
0.06mg P/0.7 1.0mg N/l	29.89
10% 2次処理水	39.98
10% 3次処理水	11.38

W.E. Hiler et al. 文献56)

表-3-8 下処理水によるChlorellaの増殖量

処理場	増殖量
芝浦	632
砂町	148
木場	274
尾久	558
荏原	666

須藤隆一ほか 文献63) (CODは17 mg/l)

表-3-9 2次処理水, 3次処理水, 湖水の水質

(単位: mg/l)

	pH	アルカリ度	NH ₄ -N	NO ₃ -N	ケルゲール -N	T-N*	P	T-P	TOC
2次処理水(N無添加)	6.8	33	5.49	7.47	8.40	15.84	6.72	8.15	6.15
2次処理水(N添加)	6.8	33	34.54	9.64	33.92	43.56	6.68	7.75	6.24
藻類沈殿処理水(N無添加)	6.9	31	6.59	9.11	6.11	15.22	0.03	0.23	4.44
藻類沈殿処理水(N添加)	6.8	27	31.51	10.75	35.02	45.77	0.03	0.35	4.40
硝化処理水	7.0	26	2.78	35.19	3.22	38.41	7.52	8.85	5.01
脱窒処理水	7.3	130	0.80	6.15	2.05	8.20	7.12	7.15	5.45
琵琶湖湖水	7.1	30	0.25	0.68	0.65	1.53	0.13	0.12	1.02

*: T-N=NO₃-N+ケルゲール-N

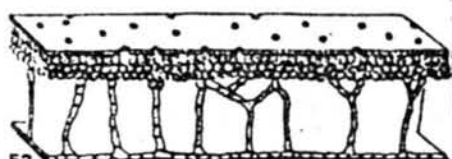
表-3-10 処理水添加試料の窒素、リン濃度
および最大増殖量

	添加率 (%)	無機-N* (mg/l)	P (mg/l)	最大増殖日 (日)	最大増殖量 X_m (数/光区) $\times 10^{-3}$
調整培養水(対照)	0	1.13	0.13	18	41
2次処理水 (N無添加)	0.5	1.18	0.16	14	21
	1	1.25	0.20	18	47
	5	1.72	0.46	18	23
	10	2.31	0.79	20	131
	25	4.09	1.78	32	1,080
	50	7.05	3.43	30	1,679
	75	10.00	5.07	32	1,901
	100	12.96	6.72	36	1,741
2次処理水 (N添加)	0.5	1.35	0.16	18	50
	1	1.56	0.17	16	51
	5	3.28	0.46	14	27
	10	5.44	0.79	22	188
	25	11.89	1.77	30	1,119
	50	22.66	3.41	28	1,099
	75	33.42	5.04	28	982
	100	44.18	6.68	28	814
調整沈殿処理水 (N無添加)	25	4.77	0.10	16	20
	50	8.43	0.07	14	18
	75	12.02	0.04	16	16
	100	15.70	0.03	16	179
調整沈殿処理水 (N添加)	25	11.41	0.10	13	40
	50	22.70	0.07	16	43
	75	31.98	0.04	12	50
	100	42.26	0.03	16	70
硝化処理水	25	19.34	1.98	30	1,709
	50	19.55	3.83	34	2,004
	75	28.76	5.67	38	1,945
	100	37.97	7.52	34	1,673
脱窒処理水	25	2.59	1.88	22	243
	50	4.04	3.63	18	932
	75	5.50	5.37	28	1,079
	100	6.95	7.12	28	1,384
調整沈殿処理水へのP再添加	P添加濃度 (mg/l)				
	N無添加	0.001			
		0.01			
		0.0			
		1	15.70		
	N添加	0.001			
		0.01			
		0.1	42.26		
		1			
	N無添加	0.03		14	175
		0.04		20	268
		0.13		28	1,524
		1.03		28	1,778
	N添加	0.03		18	165
		0.04		18	374
		0.13		28	1,687
		1.03		28	907

*: 無機-N = $\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$

表-3-11 物理化学的処理水添加における
最大増殖量

	添加率 (%)	最大増殖日 (日)	最大増殖量 X_m (数/光区) $\times 10^{-3}$
対 照		16	10
2次処理水	25	22	904
	50	22	1,056
	75	22	1,552
	100	22	1,654
調整沈殿処理水	25	16	445
	50	18	405
	75	22	401
	100	22	477
活性炭処理水	25	22	28
	50	20	32
	75	22	25
	100	22	20



52
Spirodela

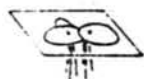


図-4-1 *Spirodela* 葉状体断面図
R.B. Kanl 文献(3)



図-4-2 *Lemna paucicostata* 図-4-3 *Spirodela polyrrhiza*
牧野富太郎 文献(1)



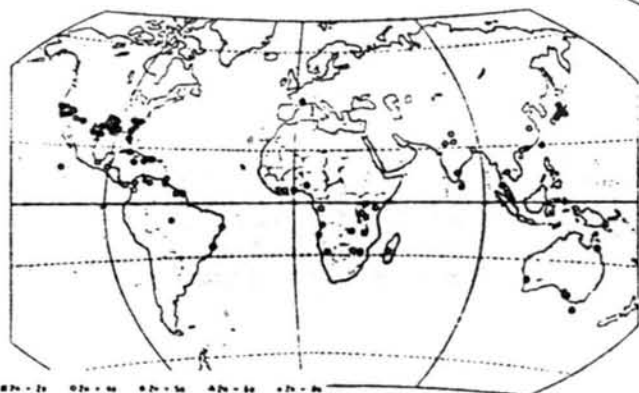
牧野富太郎 文献(6)



図-4-4 *Lemna gibba* の分布
E. Landolt 文献(21)



図-4-5 *Lemna minor* の分布
E. Landolt 文献(21)



彩色性

図-4-6 *Lemna perpusilla* の分布
K. Urbanska-Worytkiewicz 文献(16)

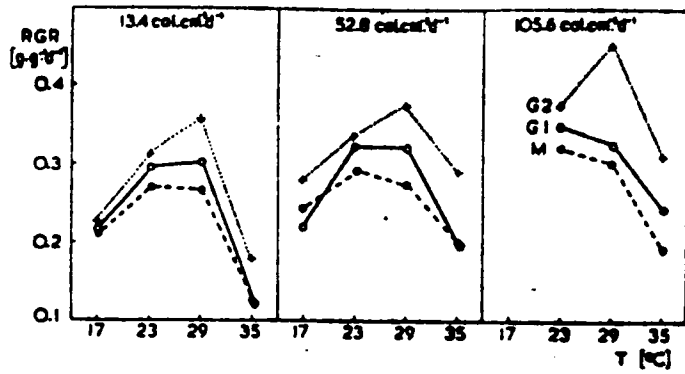


図-4-7 3種の照度における *L. minor* (M), *L. gibba* G1, *L. gibba* G2 の増殖速度
E. Rejmanek 献 37)

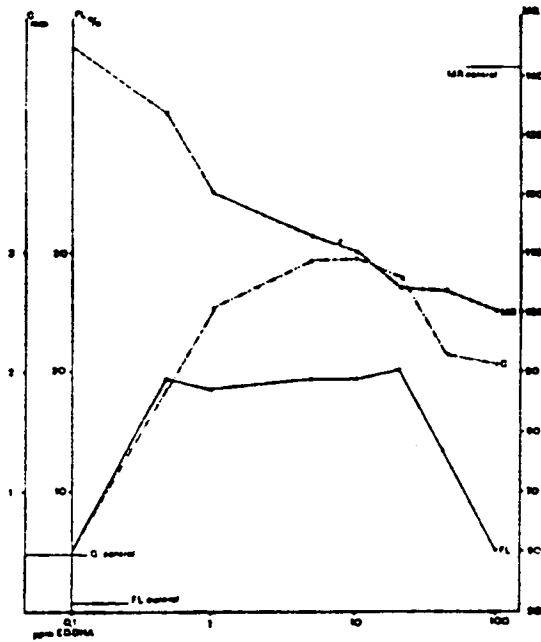


図-4-8 *L. gibba* に対する EDDHA の凸面性 (G), 開花 (FL), 増殖速度 (MR) の影響
A.H. Pieterse 献 52)

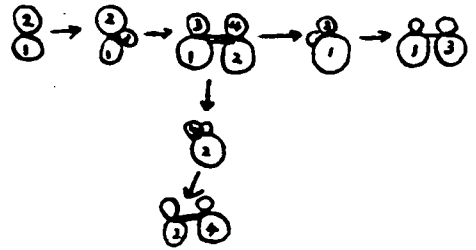


図-4-9 ウキワの増殖模式図

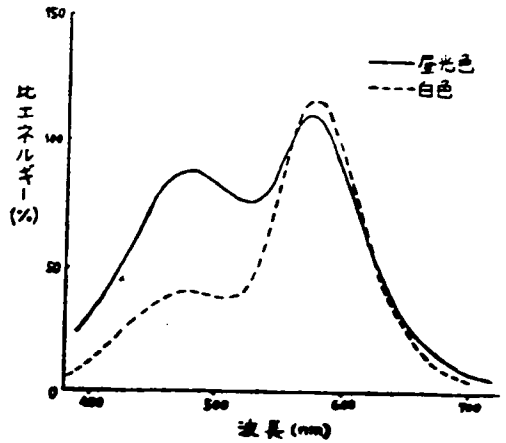


図-4-10 昼光色, 白色蛍光灯の比エネルギー

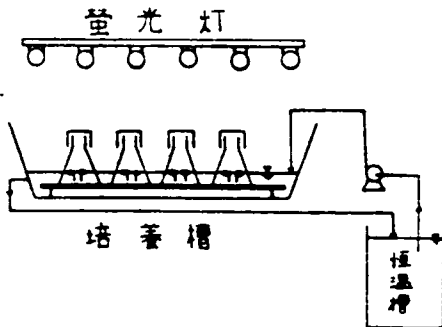


図-4-11 実験装置図

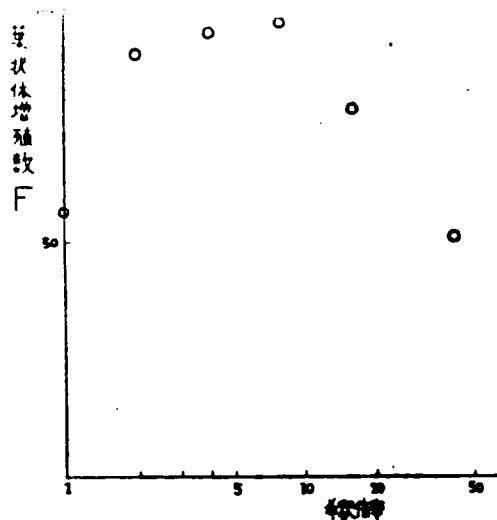


図-4-12 希釈倍率と葉状体増殖数

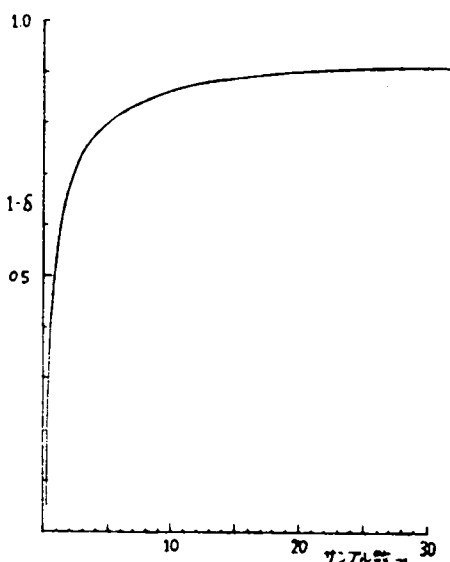


図-4-14 サンプル数と相対精度

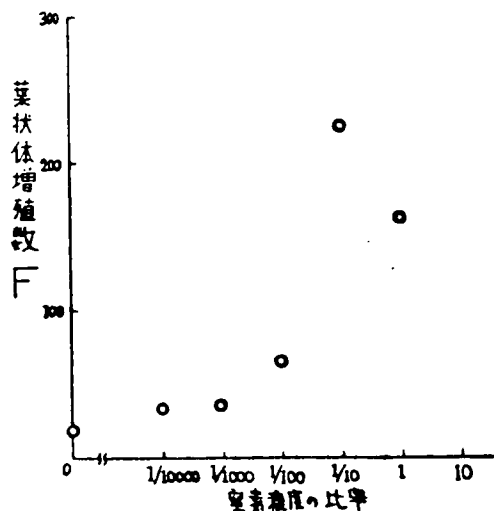


図-4-16 希釈濃度と葉状体増殖数

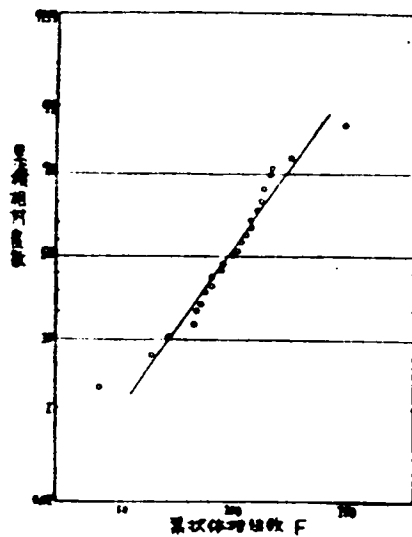


図-4-13 $1/800$ MH 希釈濃度における Thomas plot

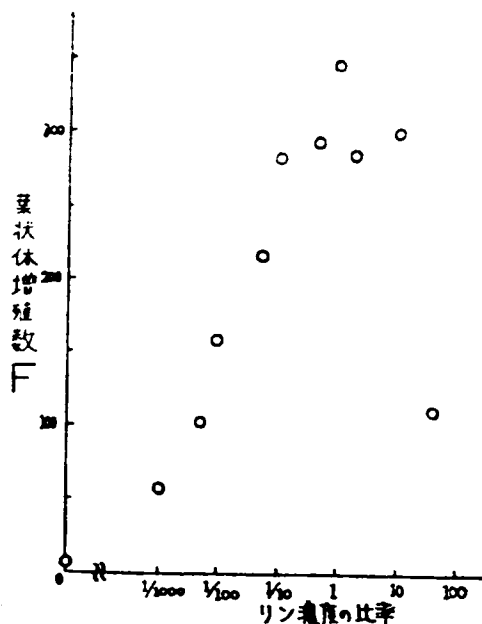


図-4-15 リン濃度と葉状体増殖数

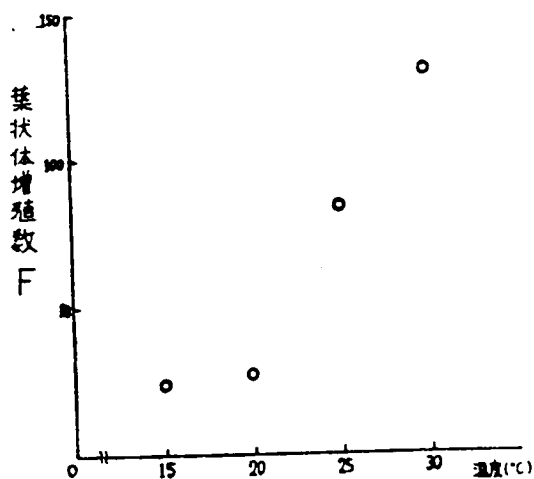


図-4-17 培養温度と葉状体増殖数

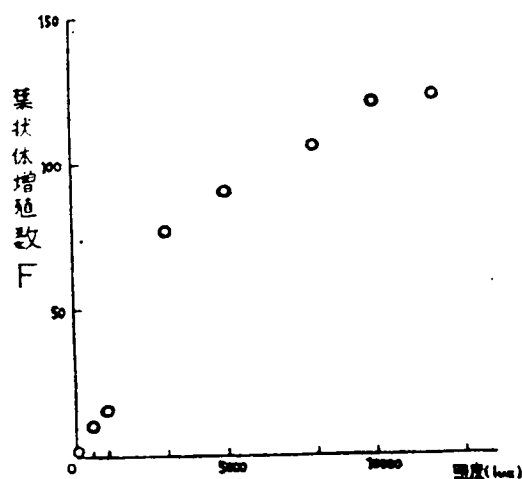


図-4-18 照度と葉状体増殖数

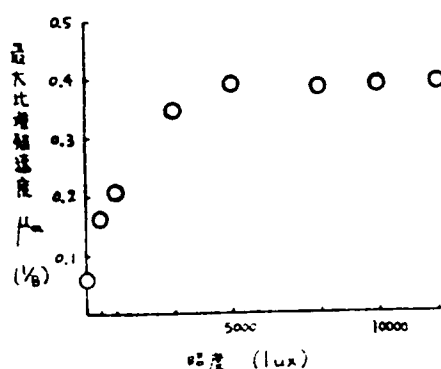


図-4-19 照度と最大比増殖速度

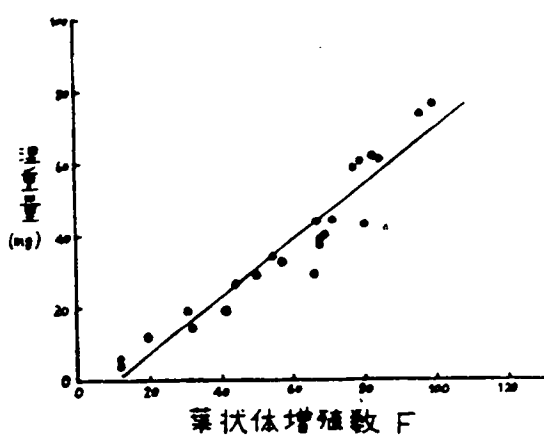


図-4-21 鉄濃度に関する実験における葉状体増殖数と湿重量

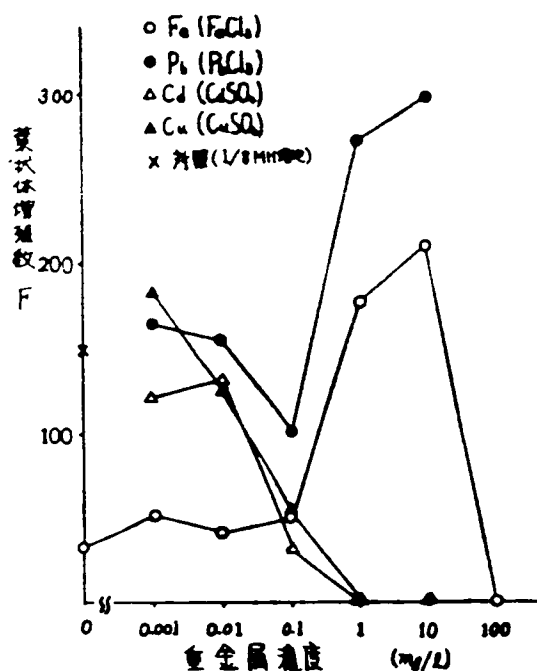


図-4-20 重金属のウキワシ増殖におよぼす影響

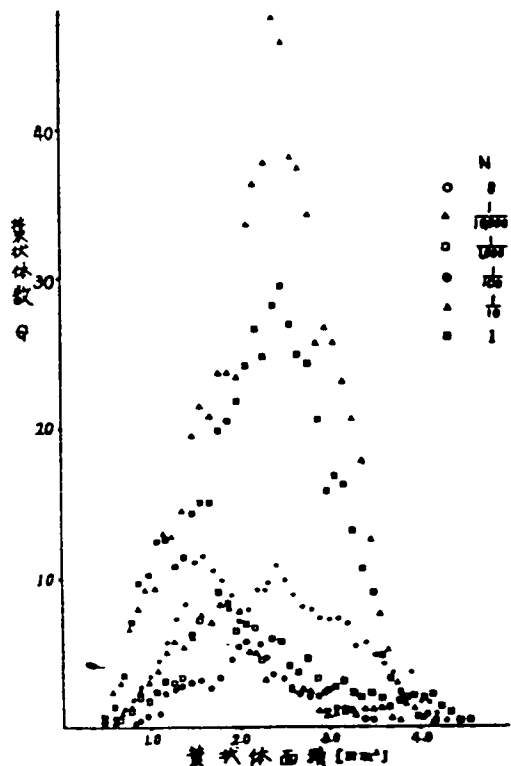


図-4-22 窒素濃度に関する実験における葉状体面積の分布

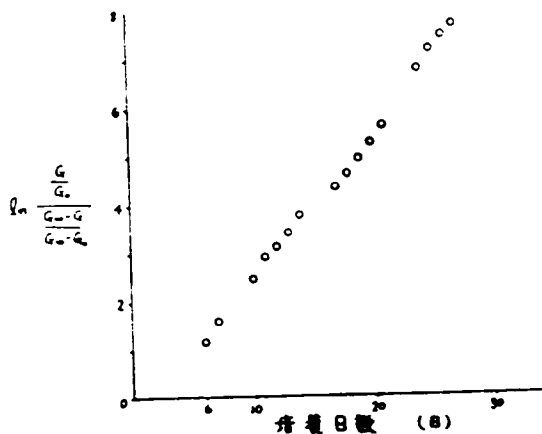


図-4-25 リン濃度に関する実験における(4-10)式

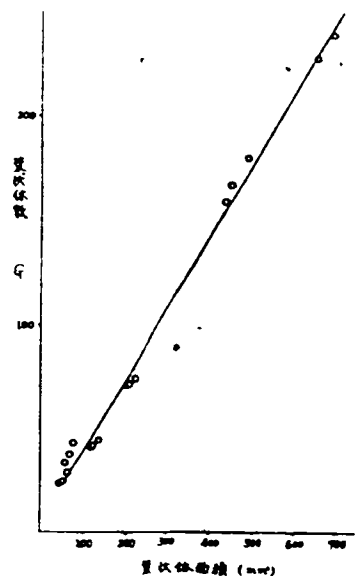


図-4-23 窒素濃度に関する実験における葉状体面積の和と葉状体数

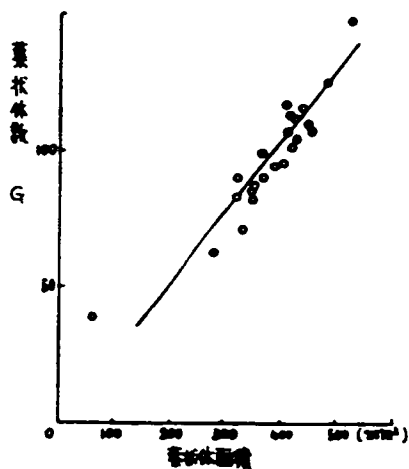


図-4-24 1/8MH培地実験における葉状体数と葉状体面積

表-4-1 水生植物の生活形分類

A. 固着性水生植物 (hydrophytes attached to the substrate)

(1) 抽水(挺水)植物 (emergent plants)

ヨシ, ガマ, タマゴサイ

(2) 浮葉植物 (floating-leaved plants)

ガガブタ, ヒルムシロ, ヒシ

(3) 沈水植物 (submerged plants)

タモ, エビモ, アマモ, シュジタモ

B. 浮遊(遊)水生植物 (free-floating hydrophytes)

ウキタマ, ヤンシヨウモ, ホテイアオイ

C.D. Scallthorpe 編(2)

表-4-2 ウキワサ類の培養液

培養液の種類	主要な元素の含有量 (mg/L)					培養液に含まれる 主要な無機塩類
	N	P	K	Ca	Mg	
Knop's sol. (1/16 conc.)	12.0	5.8	12.9	17.1	2.4	KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4
Hatner's sol. (1953)	104.2	93.9	108.4	68.8	68.8	NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4
Clark's sol. (1953)	121.6	24.9	313.0	16.0	23.7	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, KNO_3 , MgSO_4
Hoagland's sol.	213.1	31.7	224.1	208.1	24.1	KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 , MgSO_4
Yoshimura's sol. (1941)	23.8	5.8	19.5	6.8	4.9	KH_2PO_4 , NaNO_3 , CaCl_2 , KCl , MgSO_4
White's sol. (1938)	28.9	28.8	286.6	115.9	78.0	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, K_2SO_4 , $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4
Gocham's sol. (1941)	47.5	23.3	282.6	67.8	97.6	KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KCl , MgSO_4

注: 塩功 濃 30)

表-4-3 Modified Hoagland's Medium

	(mg/l)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1180
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	492
KNO_3	1515
KH_2PO_4	680
$\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	5.4
Tartaric acid	3.0
H_3BO_3	2.86
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3.62
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.12
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08

表-4-4 実験条件

実験 番号	因子	培地	極小 葉枚数	1試料の 万葉板	温度 (°C)	照度 (lux)	培養 日数(日)
1	培地	MH	3	3	↑	↑	12
2	pH	1/8 MH	9	3	↑	↑	16
3	前培養	1/800 MH	9	5	↑	↑	15
4	葉枚率の分布	1/8, 1/800 MH	3, 9	24, 22	25	8000	14
5	P	1/8 MH	3	3	↓	↓	30
6	N	1/8 MH	6	3	↓	↓	14
7	温度	1/8 MH	6	3	↓	↓	13
8	照度	1/8 MH	6	3	20	↓	13
9	培地容量	1/800 MH	9	3	↑	↑	14
10	Cd	1/8 MH	9	3	↑	↑	14
11	Pb	1/8 MH	9	3	25	8000	14
12	Cu	1/8 MH	9	3	↓	↓	14
13	Fe	1/8 MH	9	5	↓	↓	14

表-4-5 培養pHと葉枚増殖数

培養前 pH	培養後 pH	葉枚増殖数F
2.0	2.1	—
3.0	3.1	—
4.0	6.5	118
5.0	6.8	140
9.0	7.4	19
10.1	7.9	19
11.0	8.4	19
11.9	8.9	16

表-4-6 前培養期間と葉枚増殖数の関係

前培養期間 (日)	葉枚増殖数F
8	81
11	91
14	80
18	76
24	52

表4-7 培養温度と
最大比増殖速度

培養温度 (°C)	最大比増殖速度 μ_m (1/日)
15	0.295
20	0.341
25	0.371
30	0.452

表4-8 培地容量と葉状体増殖数

培地容量 (ml)	葉状体増殖数 F
20	42
140	111
1,000	227

表4-9 リン濃度に関する実験における
増殖速度定数

1/8 MH培地に対する リン濃度の倍率	増殖速度定数 k (1/日)
40	0.166
10	0.287
2	0.256
1	0.257
1/2	0.303
1/10	0.281
1/20	0.249
1/100	0.327
1/200	0.384
1/1000	0.289
0	0.146

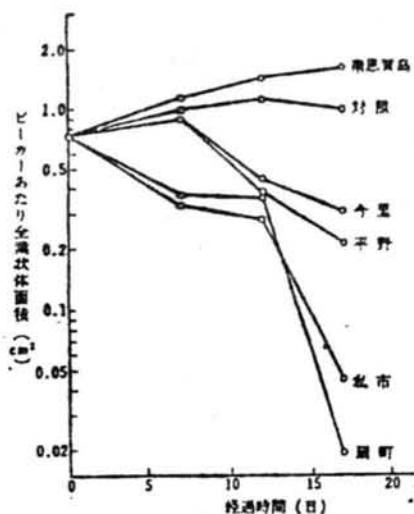


図-5-1 雨水により栽培したウキウキの生長曲線 佐藤治雄 文庫1)

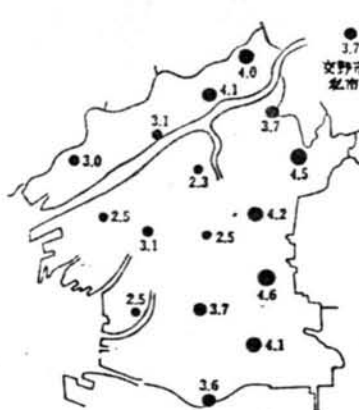


図-5-2 雨水により栽培したウキウキの成長量(ビークー当たり乾重mg) 日経生物環境問題専門委員会 文庫4)

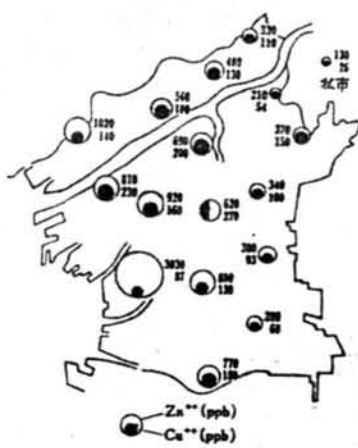


図-5-3 雨水中の重金属濃度 日経生物環境問題専門委員会 文庫4)

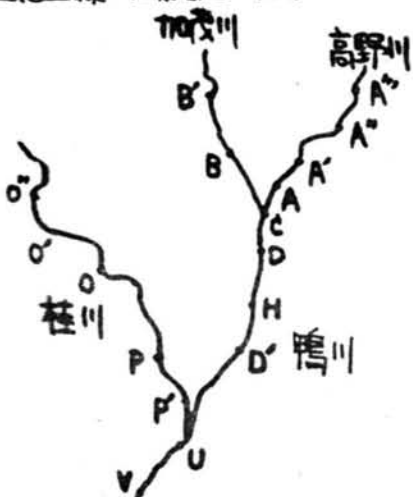


図-5-4 鴨川水系の調査地点 栗原照子 文庫23)

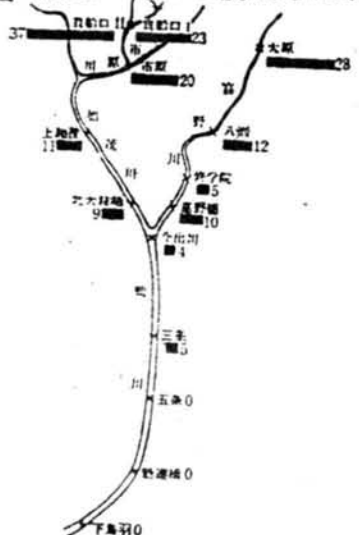


図-5-5 鴨川水系の biotic index 津田松雄 文庫24)

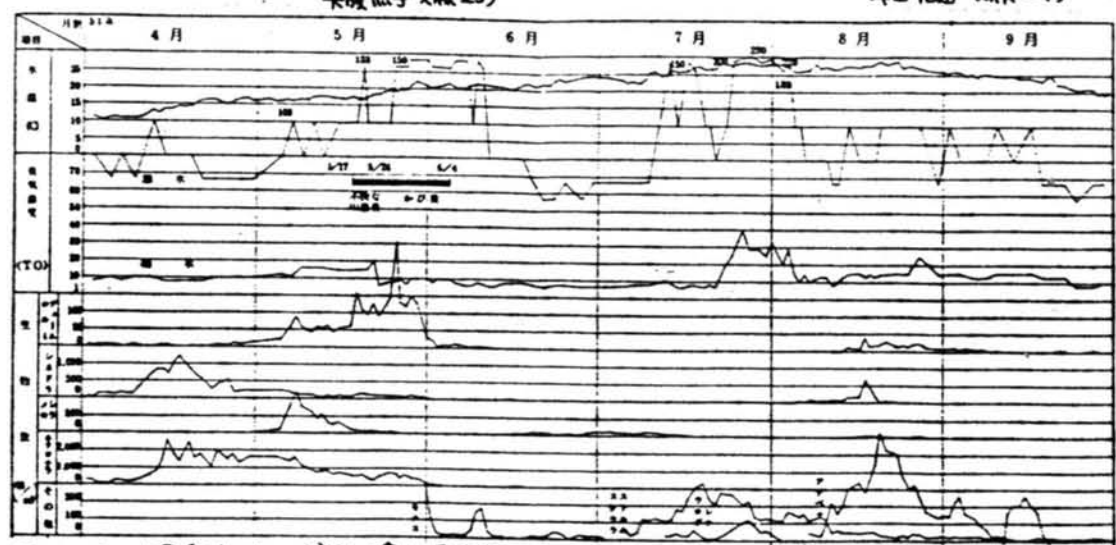


図-5-6 昭和51年 路上浄水場原水の生物叢 読売新聞 文庫30)

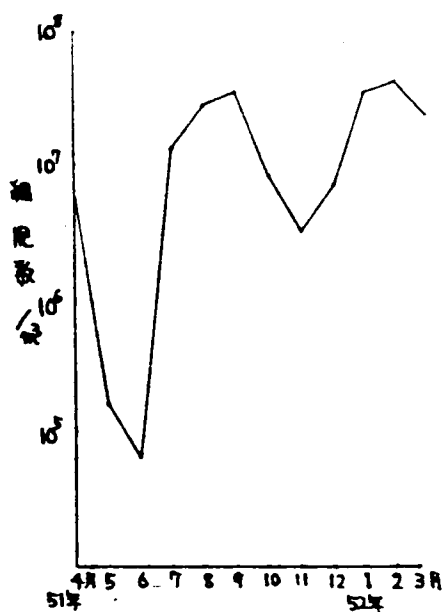


図-5-7 植物プランクトン細胞数の変化
滋賀県 文献 32)

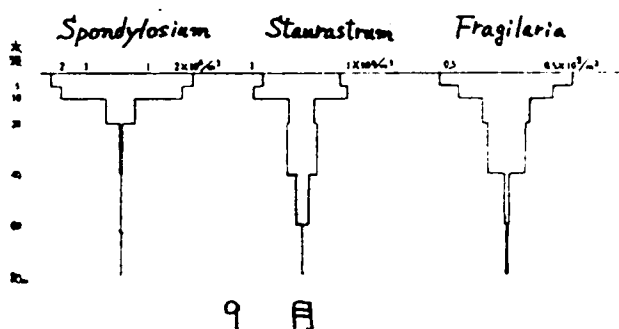
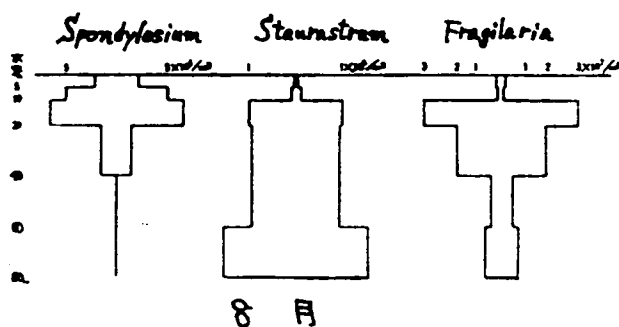
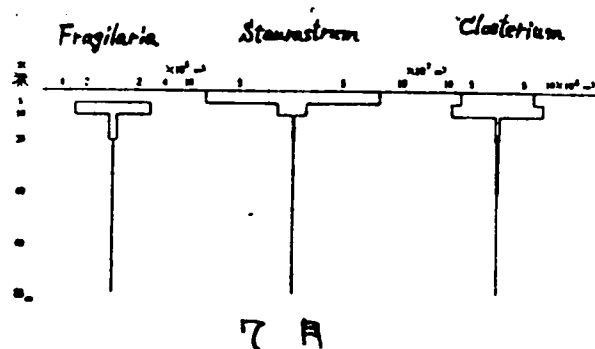
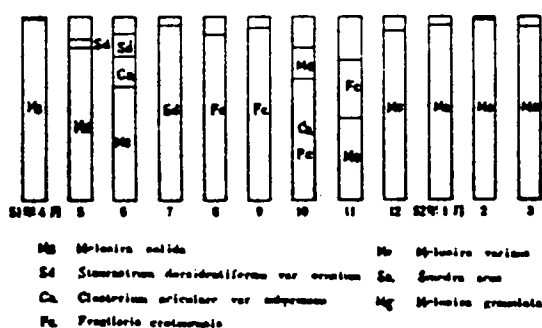
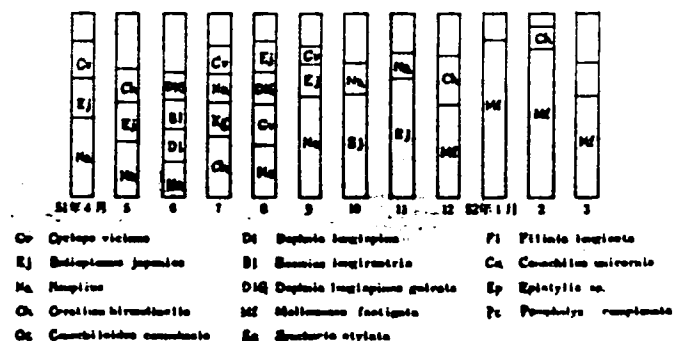


図-5-9 *Melosira solida* の垂直分布の
変化 滋賀県 文献 32)

図-5-8 植物プランクトンの垂直分布
滋賀県 文献 32)

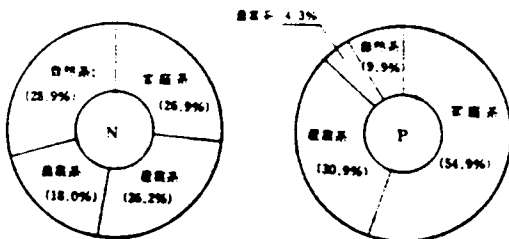


植物プランクトンの構成



動物プランクトンの構成

図-5-10 植物プランクトン、動物プランクトンの構成
滋賀県 文献 32)



自然系: 山林野行食料→宅地庭園食料→湖沼底質食料 畜産系: 工場食料→サービス業等食料
生活系: 生活排水食料→下水道プラント食料→下水処理場 産業系: 農林地食料→畜産食料

図-5-11 昭和48年の発生汚濁負荷
水質係数 (2次 32)

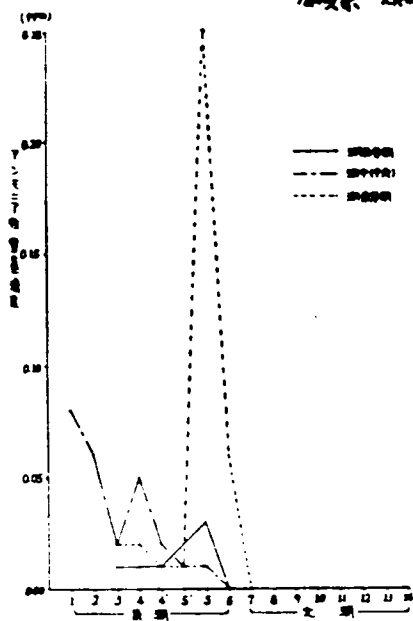


図-5-13 琵琶湖のアンモニア性窒素濃度
水質係数 (2次 31)

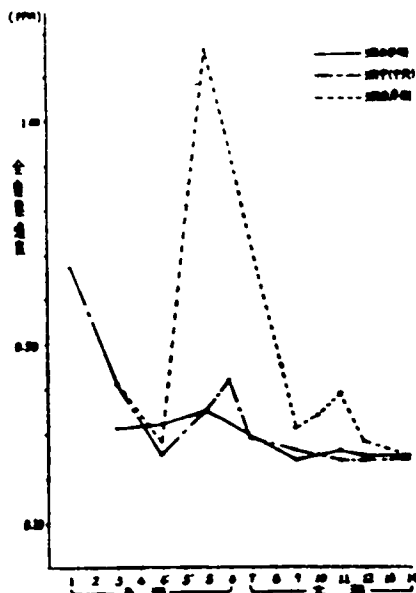


図-5-15 琵琶湖の全窒素濃度
水質係数 (2次 31)

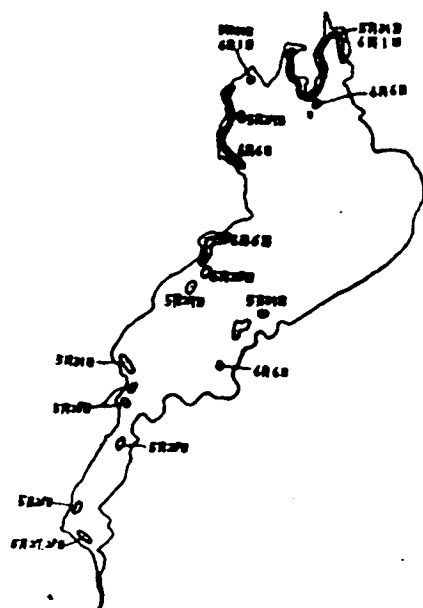


図-5-12 未処理汚濁状況
水質係数 (2次 31)

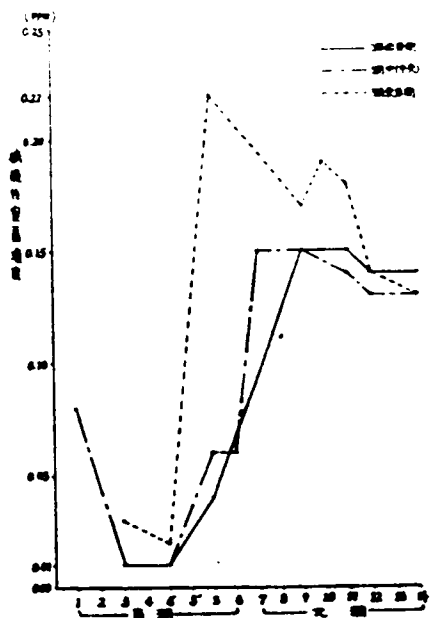


図-5-14 琵琶湖の硝酸性窒素濃度
水質係数 (2次 31)

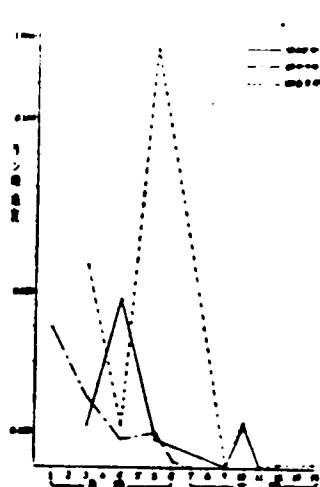


図-5-16 琵琶湖のリン濃度
濃度単位は mg/L

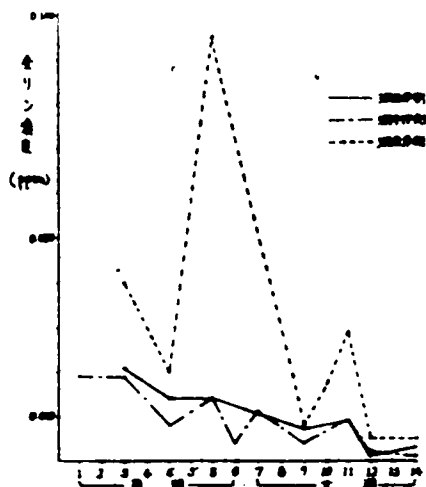


図-5-17 琵琶湖の全リン濃度
濃度単位は mg/L



図-5-18 鴨川水系の採水地点

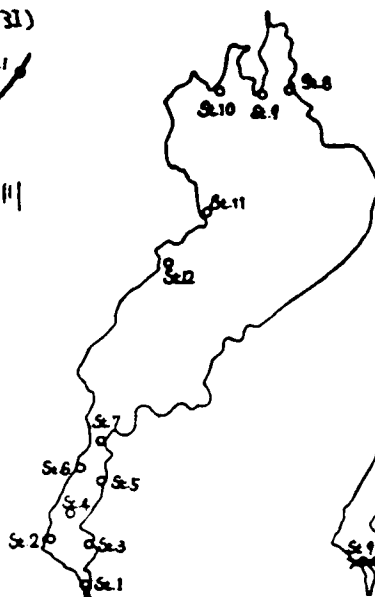


図-5-19 琵琶湖Iの採水地点



図-5-20 琵琶湖IIの採水地点

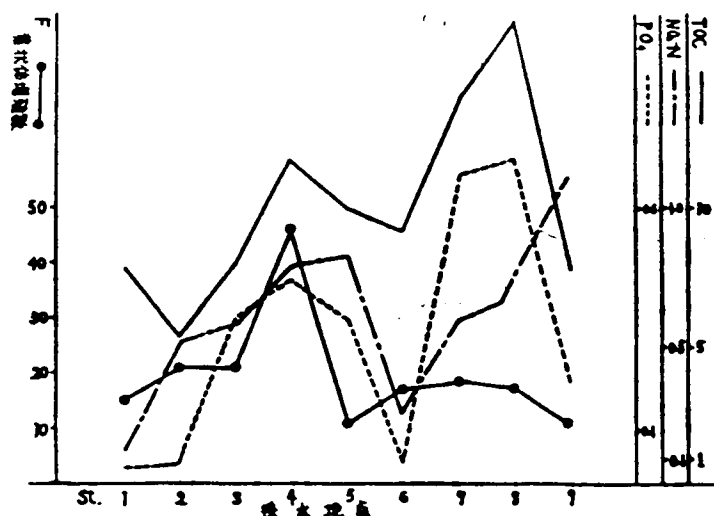


図-5-21 鴨川水系Iにおける水質および藻状体増殖数

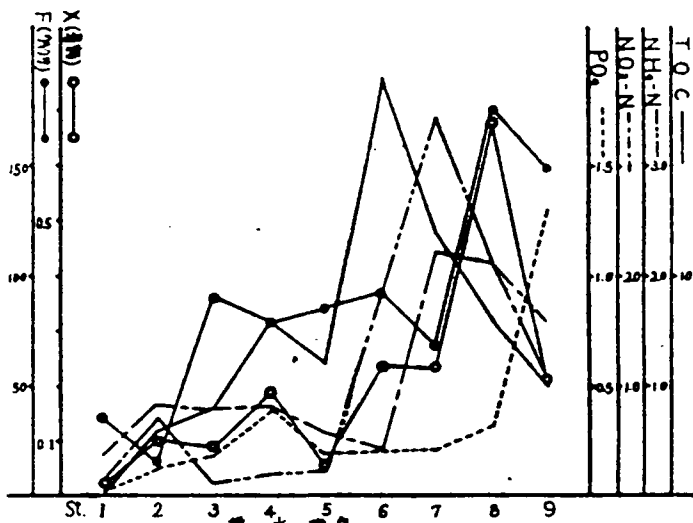


図-5-22 鴨川水系Ⅱにおける水質およびウツサ、藻類増殖量

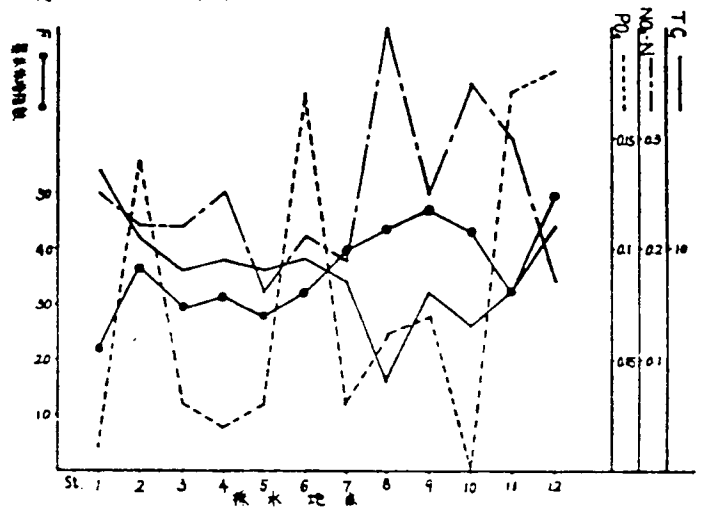


図-5-23 琵琶湖Ⅰにおける水質およびウツサ増殖数

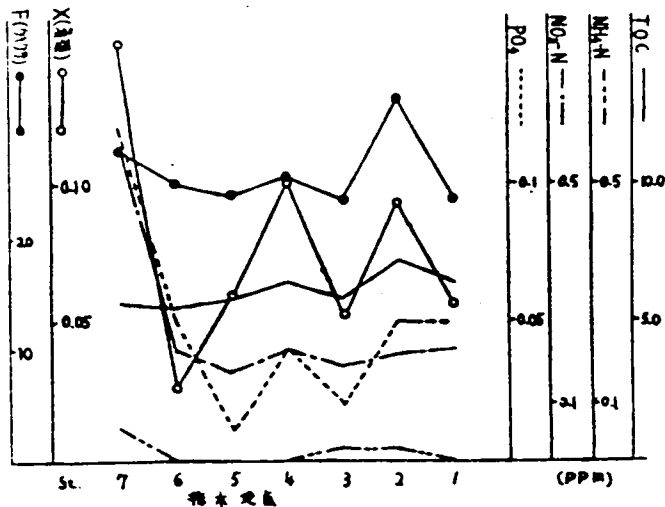


図-5-24 琵琶湖Ⅱの表層水における水質およびウツサ、藻類増殖量

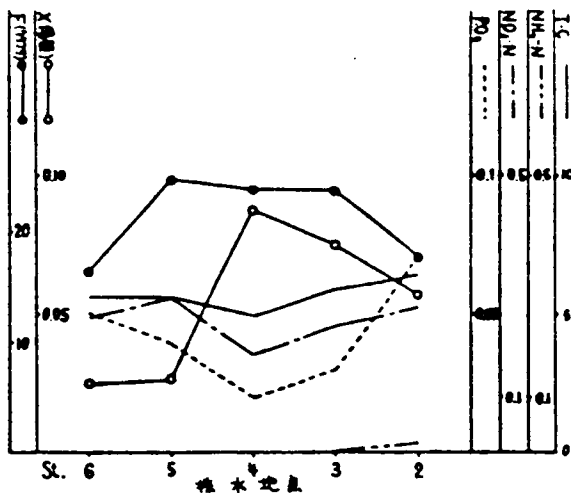


図-5-25 琵琶湖Ⅱの底層水における水質およびウキワサ、藻類増殖量

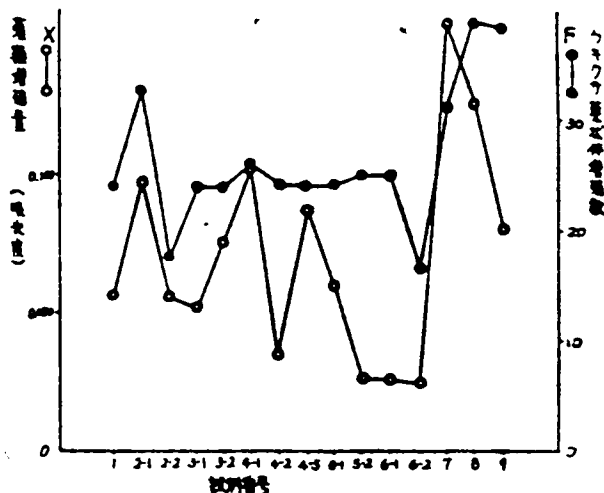


図-5-26 琵琶湖Ⅱにおけるウキワサ増殖量および藻類増殖量

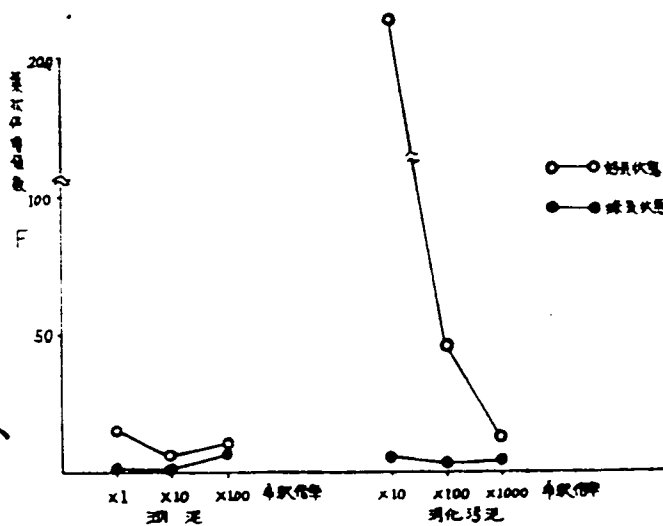


図-5-27 底層水によるウキワサ増殖量

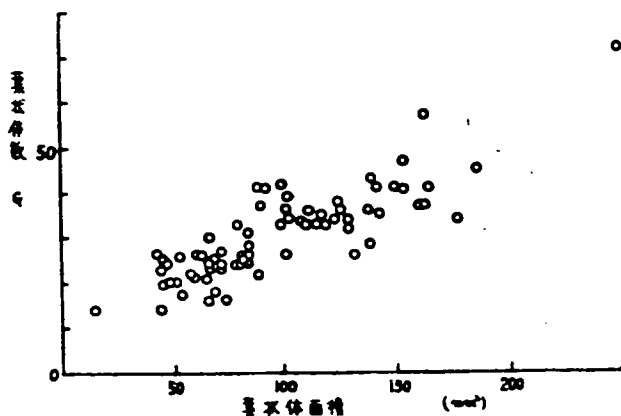


図-5-28 琵琶湖Ⅱにおける藻根体数と藻水体面積

表-5-1 鴨川水系の水質

河川	地点	項目	42 年				45 年			
			T-N	T-P	Cl ⁻	酸化D	T-N	T-P	Cl ⁻	酸化D
鴨川水系	高野川	A ¹	0.42	0.040	4.24	5.2	0.69	0.062	7.64	4.5
		A ²	0.54	0.052	5.34	6.0	0.78	0.078	8.52	7.5
		A ³	0.75	0.074	7.42	12.3	0.97	0.076	10.51	14.5
		A ⁴	0.89	0.090	8.95	15.4	1.68	0.166	16.01	13.0
	河合川	B ¹	0.65	0.065	6.43	7.3	0.62	0.063	6.07	6.5
		B ²	0.58	0.061	5.68	10.4	1.96	0.182	19.40	12.0
	鴨川	C	1.17	0.114	12.87	11.8	2.80	0.286	28.62	7.2
		D	1.52	0.153	15.04	19.7	3.68	0.380	36.41	20.9
		H	6.05	0.632	57.47	28.3	5.24	0.543	49.70	23.1
		I ¹	2.26	0.225	24.85	17.3	3.50	0.381	33.23	14.1
		U	2.15	0.208	23.65	20.9	4.0	0.420	38.25	17.5
桂川水系	桂川	O ¹	0.39	0.042	4.09	7.7	0.59	0.060	5.90	11.0
		O ²	0.31	0.032	3.41	8.5	0.61	0.064	6.17	6.5
		O ³	0.48	0.050	5.28	9.8	1.62	0.159	19.41	7.6
		O	0.52	0.053	5.22	10.4	1.65	0.162	17.52	9.4
		P	9.12	0.953	90.22	14.7	5.78	0.602	83.22	13.0
		P ¹	7.08	0.760	77.88	17.2	5.92	0.608	99.50	16.7
		V	9.89	0.995	98.91	15.4	5.80	0.572	96.80	18.6

単位：mg/l (ppm)

表-5-2 鴨川水系の主な珪藻種(45.9.7)

種名	河川名	地点	単位：μm											
			os	os	βm	αm	os	βm	αm	βm	αm	αm	αm	αm
<i>Meleisira varians</i>	B		5	60	15	25	10		15					
<i>M. granulata</i>	B	20	15		20		5	10	20	15				
<i>Fragilaria construens</i>	B			10		22	15	25	20					6
<i>F. sp.</i>	B	30	10	5				15	5	5				10
<i>Synedra ulna</i>	B	25		25	24	20	20	25	50	50	60			6
<i>S. ulna</i> var. <i>rosei</i>	B	10	5					20						
<i>S. ulna</i> var. <i>oxyrhynchus</i>	C		5	5	5				70	20	45	25		
<i>S. rampae</i>	C			10	2									15
<i>S. taucherial</i>	B				10	12	5		25		40			
<i>S. capitellata</i> f. <i>striis</i>	C			10		10	5	15	10					
<i>Ceratoneis arcus</i>	B	25	5				5							
<i>Rhoicosphenia curvata</i>	B	10		20	10	4	10		10					
<i>Achnanthes</i> sp. 1	B		5	5	10		5	20	5	15	15	2		
<i>A.</i> sp. 2	B	15			20	15	15							
<i>Cocconeis placentula</i>	B	3	5	5	25		5		5	10	5	10		
<i>C. placentula</i> var. <i>linearis</i>	C		10	15		10		15	15		10			
<i>Navicula cryptocephala</i>	B	10	10	10	10	10	10		20	5		10		
<i>N. cryptocephala</i> var. <i>venusta</i>	B		10	10			6							
<i>N. bacillum</i>	B	5		5		5				10				
<i>N. gastrum</i> var. <i>exigua</i>	B									20				
<i>N. minima</i>	C				15		5	15	10	20	5	2		
<i>N. laterostrata</i>	B					15					25			
<i>Gomphonema olivaceum</i>	B	5	5		10		10	15			20	4		
<i>G. quadripunctatum</i>	B		5	5	5	10		30	20					
<i>G. parvum</i>	B				10		5	15						
<i>G. abbreviatum</i>	B				30					5	25			
<i>Cymbella tenuis</i>	B		5	10		15	30					4		
<i>C. ventricosa</i>	B	12		20		10	20	5	10			4		
<i>Nitzschia palea</i>	B	20	15	5	20	25	30	10	70	100	65	15		
<i>N. dissipata</i>	B	5		10			15				50			
<i>N. fonticola</i>	B			2	10	15	10	30		5		6		
<i>N. paleacea</i>	B						5	15						
<i>Sarirella</i> sp.	C				10		2		10	25		2		
<i>Pinnularia</i> sp.	C			10	2			2		15	7	10		
<i>Amphora</i> sp.	C				2					15	25			
<i>Cyclotella comae</i>	C			2		2		10		20	3	6		

単位：μm (ppm)

表-5-3 鴨川水系のアンモニア窒素濃度

地点	昭和52.2.31			昭和53.2.1		
	A	M	P	A	M	P
鴨川 (出町橋)	0.05	0.15	0.05	0.33		
高野川 (河合橋)	0.05	0.26	0.08	0.20		
鴨川 (京川橋)	1.17	2.68	0.16	0.25		
桂川 (宮前橋)	5.22	3.27	1.49	2.60		

単位：mg/l (ppm)

表-5-4 鴨川水系のアンモニア窒素濃度

地点	NH ₄ -N (ppm)
八瀬大橋	0
高花園橋	0
野高野大橋	0
川河合橋	0.2
三条大橋	ND
鴨川 陶北橋	ND
京川橋	0.5
桂川 羽京師橋	42
川宮前橋	30

単位：mg/l (ppm)

表-5-5 鴨川水系における窒素濃度

	精川 吉岡	精川・中谷川・不孝川 合流点		
		左岸	中央	右岸
アモニアN	0.65	0.06	0.12	0.41
アモニアN	194	0.09	0.13	1.70
亜硝酸N	0.11	0.01	0.01	0.12
硝酸性N	102	1.00	0.24	0.90

定例者防止道路建設協議会 議 27) (ppm)

表-5-6 鴨川水系における水質

	鴨川	桂川	淀川
	島田大橋 左岸	宮前橋 左岸	山崎 右岸
硝酸性N	0.67	0.75	0.30
亜硝酸性N	0.046	0.115	0.112
TP-PHOS	1.62	2.11	2.04
TP-PHOS	1.32	0.67	0.60
鉄分濃	2.93	1.21	1.42
リン酸	1.37	0.72	0.09

光州秀看腹上藥格相違念 2827) (ppm)

表-5-7 琵琶湖の現状

	規 格 値
1. 堤 の 形	複 式 状
2. 成 因	雷 害 湖
3. 湖 底 高 程	85.0
4. 水面至湖	66.6m^2 (太湖 22.3km^2) 湖底 55km^2
5. 最大水深	154m
6. 平均水深	41m
7. 湖 容 積	2,750,000万 m^3
8. 平均流入水量	$141.0 \times 10^6 \text{m}^3/\text{日}$ (=52億 $\text{m}^3/\text{年}$)
9. 平均湖容量日数	2,900日
10. 受水地域面積	3,800 km^2 (約0.5,6倍)
11. 流域人口	85万
12. 湖容積・受水地域面積比 湖容積 = 湖容積 受水地域面積	約7/4
13. 湖容積・人口 比 = 湖容積 人口	約32,000
14. 透明度	3~6m
15. 水深分布図形	6m
16. 夏季成層の観測	あ り
17. 夏季低酸素層ブ ランケット	観 測
18. 底生動物の調査	イトミミズ ムシカサガ ワム・フナ
19. 湖底土質	ローム・フナ
20. BOD	1ppm

表-5-8 琵琶湖南湖の水質および生物数

観測地点	pH	アンモニア態窒素		亜硝酸態窒素		硝酸態窒素		溶解性無機窒素	ケルダール窒素	有機窒素	全窒素	全有機窒素
		mg/L	μg/L	mg/L	μg/L	mg/L	μg/L					
大瀬川河口	7.4	10.28	5.24	10.28	5.24	10.28	5.24	10.28	5.24	10.28	5.24	10.28
大瀬川河口	7.1	0.002	0.003	0.002	0.007	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016
大瀬川河口	7.2	0.002	0.003	0.003	0.004	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016
大瀬川河口	7.6	0.005	0.006	0.009	0.001	0.026	0.007	0.026	0.007	0.026	0.007	0.026
大瀬川河口	7.1	0.004	0.005	0.009	0.001	0.026	0.007	0.026	0.007	0.026	0.007	0.026
大瀬川河口	7.1	0.009	0.005	0.009	0.004	0.016	0.007	0.016	0.007	0.016	0.007	0.016
大瀬川河口	7.1	0.003	0.005	0.003	0.004	0.015	0.008	0.015	0.008	0.015	0.008	0.015
大瀬川河口	7.2	0.007	0.005	0.009	0.004	0.023	0.009	0.023	0.009	0.023	0.009	0.023
大瀬川河口	7.1	0.002	0.006	0.004	0.003	0.016	0.010	0.016	0.010	0.016	0.010	0.016
大瀬川河口	7.1	0.004	0.005	0.009	0.003	0.016	0.014	0.016	0.014	0.016	0.014	0.016
大瀬川河口	7.3	0.004	0.005	0.009	0.003	0.017	0.009	0.017	0.009	0.017	0.009	0.017
大瀬川河口	8.2	0.002	0.006	0.006	0.003	0.017	0.007	0.017	0.007	0.017	0.007	0.017
大瀬川河口	7.7	0.002	0.006	0.009	0.002	0.026	0.007	0.026	0.007	0.026	0.007	0.026
大瀬川河口	7.5	0.004	0.008	0.009	0.002	0.024	0.011	0.024	0.011	0.024	0.011	0.024
大瀬川河口	7.3	0.002	0.008	0.009	0.002	0.021	0.012	0.021	0.012	0.021	0.012	0.021
大瀬川河口	6.7	0.009	0.012	0.018	0.002	0.048	0.002	0.048	0.002	0.048	0.002	0.048
大瀬川河口	6.7	0.009	0.012	0.010	0.001	0.047	0.001	0.047	0.001	0.047	0.001	0.047
大瀬川河口	7.6	0.002	0.006	0.009	0.001	0.019	0.007	0.019	0.007	0.019	0.007	0.019
大瀬川河口	7.2	0.002	0.008	0.006	0.001	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017
大瀬川河口	7.3	0.006	0.014	0.009	0.001	0.021	0.018	0.021	0.018	0.021	0.018	0.021
大瀬川河口	7.2	0.009	0.014	0.009	0.001	0.022	0.018	0.022	0.018	0.022	0.018	0.022
大瀬川河口	8.2	0.009	0.014	0.009	0.001	0.022	0.018	0.022	0.018	0.022	0.018	0.022
大瀬川河口	7.8	0.003	0.006	0.009	0.001	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016
大瀬川河口	7.8	0.003	0.006	0.009	0.001	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016	0.001	0.016
大瀬川河口	7.3	0.001	0.005	0.009	0.002	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017
大瀬川河口	7.1	0.014	0.005	0.009	0.002	0.027	0.003	0.027	0.003	0.027	0.003	0.027
大瀬川河口	7.1	0.001	0.006	0.009	0.002	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017
大瀬川河口	7.1	0.001	0.006	0.009	0.002	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017	0.006	0.017
大瀬川河口	8.1	0.002	0.006	0.004	0.002	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	8.0	0.002	0.007	0.006	0.004	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	7.8	0.002	0.007	0.006	0.004	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	7.2	0.007	0.006	0.008	0.002	0.027	0.010	0.027	0.010	0.027	0.010	0.027
大瀬川河口	7.2	0.012	0.006	0.006	0.004	0.019	0.010	0.019	0.010	0.019	0.010	0.019
大瀬川河口	8.5	0.001	0.008	0.004	0.003	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	8.5	0.001	0.008	0.004	0.003	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	8.3	0.001	0.008	0.004	0.003	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	7.2	0.001	0.008	0.004	0.003	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026	0.006	0.026
大瀬川河口	7.2	0.012	0.009	0.006	0.004	0.021	0.017	0.021	0.017	0.021	0.017	0.021
大瀬川河口	7.1	0.014	0.009	0.009	0.007	0.022	0.019	0.022	0.019	0.022	0.019	0.022
大瀬川河口	7.8	0.002	0.008	0.007	0.001	0.013	0.006	0.013	0.006	0.013	0.006	0.013

京都市水道局 文献 30)

表-5-9 BB和52年琵琶湖の定数、リン濃度

		NO ₂ -N	NO ₃ -N	K ₂ CrO ₄	全固	有機リン酸		合計 ppm
		ppm	ppm	ppm	ppm	PCとして	Pとして	
大 成	平均	0001	012	015	027	0003	0001	0009
	最 大	0003	015	013	026	0000	0000	0007
	(0000)	(000)	(013)	(013)	(0009)	(0001)	(0009)	
	検 査	0000	009	018	027	0003	0002	0011
	(0001)	(010)	(014)	(021)	(0001)	(0002)	(0005)	
	西 部	0001	011	015	025	0001	0001	0003
	中 央	0001	011	015	026	0004	0001	0009
	東 部	0002	014	018	030	0004	0002	0012
	平均	0002	010	033	043	0022	0007	0025
	最 大	0003	005	038	043	0033	0011	0027
大 成	最 小	0000	000	031	031	0021	0007	0026
	検 査	0002	008	037	045	0020	0007	0035
	(0002)	(026)	(025)	(051)	(0016)	(0005)	(0014)	
	西 部	0001	007	027	034	0014	0004	0019
	中 央	0001	008	027	035	0010	0003	0019
	東 部	0003	015	045	060	0044	0010	0060
	平均	0005	011	035	046	0023	0008	0020
	最 大	0014	008	058	067	0040	0013	0019
	最 小	0002	002	026	028	0028	0009	0021
	検 査	0003	006	037	043	0014	0005	0029
大 成	平均	0002	007	034	042	0004	0003	0009

表-5-10 窒素、リン濃度の経年変化

	NO ₃ -N		K ₂ 硫酸	含 M		重 量 % > 等		含 P
	ppm	ppm		ppm	ppm	PO ₄ -P ₂ O ₅	P ₂ O ₅	
北 湖	44	—	—	—	—	—	—	—
	45	0001	003	014	019	0004	0002	—
	46	0002	005	018	023	0004	0001	0012
	47	0002	005	018	023	0003	0001	0010
	48	0002	007	015	022	0008	0003	0010
	49	0004	007	016	024	0004	0001	0010
	50	0003	010	019	029	0009	0003	0008
	51	0008	012	016	029	0003	0001	0011
52	0001	012	015	027	0003	0001	0009	
南 湖	44	—	002	031	034	0023	0008	—
	45	0004	010	025	045	0018	0006	—
	46	0005	009	036	045	0020	0007	0027
	47	0003	008	040	048	0039	0013	0031
	48	0002	009	033	042	0012	0004	0027
	49	0003	009	038	047	0015	0005	0023
	50	0005	014	038	053	0023	0008	0027
	51	0003	012	034	046	0019	0006	0025
52	0002	010	033	042	0022	0007	0007	
海 湖	44	0005	010	040	051	0015	0005	—
	45	0006	009	038	047	0011	0004	—
	46	0005	007	032	039	0025	0008	0018
	47	0001	007	029	036	0009	0003	0016
	48	0004	009	033	042	0002	0001	0028
	49	0004	010	025	035	0009	0003	0012
	50	0001	010	028	038	0007	0002	0025
	51	0008	012	029	041	0012	0004	0019
52	0005	011	035	044	0023	0008	0020	

海關與生活環境部 (7/11 文庫 31)

来源：生态环境部174 文编 31)

北湖の水質

項目	14-1	14-2	14-3
14-1	14-2	14-3	14-4
14-5	14-6	14-7	14-8
14-9	14-10	14-11	14-12
14-13	14-14	14-15	14-16
14-17	14-18	14-19	14-20
14-21	14-22	14-23	14-24
14-25	14-26	14-27	14-28
14-29	14-30	14-31	14-32
14-33	14-34	14-35	14-36
14-37	14-38	14-39	14-40
14-41	14-42	14-43	14-44
14-45	14-46	14-47	14-48
14-49	14-50	14-51	14-52
14-53	14-54	14-55	14-56
14-57	14-58	14-59	14-60
14-61	14-62	14-63	14-64
14-65	14-66	14-67	14-68
14-69	14-70	14-71	14-72
14-73	14-74	14-75	14-76
14-77	14-78	14-79	14-80
14-81	14-82	14-83	14-84
14-85	14-86	14-87	14-88
14-89	14-90	14-91	14-92
14-93	14-94	14-95	14-96
14-97	14-98	14-99	14-100

表-5-12 窒素 およびリンの琵琶湖への流出量

年 次	總 產 量 及 產 值				總 工 作 量			
	計 量 單 位	1952	1953	1954	計 量 單 位	1952	1953	1954
煤	產 量	3730	3666	3764	產 值	26.9	26.9	27.1
	工 作 量	714	700	700	工 作 量	20	20	20
	工 作 量	364	356	356	工 作 量	27	27	27
	工 作 量	172	176	176	工 作 量	44	44	44
油	產 量	2227	2227	2227	產 值	27	27	27
	工 作 量	7225	7167	7167	工 作 量	550	550	550
	工 作 量	3650	3650	3650	工 作 量	222	222	222
	工 作 量	3619	3619	3619	工 作 量	189	189	189
電	產 量	524	524	524	產 值	24	24	24
	工 作 量	280	280	280	工 作 量	222	222	222
	工 作 量	6011	6011	6011	工 作 量	102	102	102
	工 作 量	13603	13603	13603	工 作 量	102	102	102
水	產 量	1220	1220	1220	產 值	120	120	120
	工 作 量	1600	1600	1600	工 作 量	65	65	65
	工 作 量	160	160	160	工 作 量	10	10	10
	工 作 量	122	122	122	工 作 量	22	22	22
土	產 量	7673	7673	7673	產 值	260	260	260
	工 作 量	10467	10467	10467	工 作 量	510	510	510
	工 作 量	9676	9676	9676	工 作 量	1010	1010	1010
	工 作 量	6040	6040	6040	工 作 量	645	645	645
文	產 量	1162	1162	1162	產 值	73	73	73
	工 作 量	944	944	944	工 作 量	233	233	233
	工 作 量	10700	10700	10700	工 作 量	661	661	661
	工 作 量	37649	37649	37649	工 作 量	2027	2027	2027
林	產 量	13100	13100	13100	產 值	1074	1074	1074
	工 作 量	13472	13472	13472	工 作 量	765	765	765
	工 作 量	2330	2330	2330	工 作 量	144	144	144
	工 作 量	1600	1600	1600	工 作 量	1000	1000	1000
F	產 量	36643	36643	36643	產 值	1363	1363	1363
	工 作 量	75325	75325	75325	工 作 量	1029	1029	1029
	工 作 量	36643	36643	36643	工 作 量	1363	1363	1363
	工 作 量	75325	75325	75325	工 作 量	1029	1029	1029

坏学 端(33)

表-5-14 琵琶湖Ⅱにおける試料

St.	試料番号	地名	種皮水深(m)	種水水深(m)
1	1	昆上港		0
2	2-1	竹生島北	60	0
	2-2			50
3	3-1	竹生島西	70	0
	3-2			60
	4-1			0
4	4-2	中点	85	40
	4-3			85
5	5-1	西条川	90	0
	5-2			75
6	6-1	石田川河口	60	0
	6-2			50
7	7	江口今津		0
8	8	程色川橋		0
9	9	江口下橋		0

表-5-15 底質および消化汚泥の分析結果

	底質	消化汚泥
含水率(%)	69.3	90.7
pH	6.0	7.7
酸可溶性リン(%)	1.33	19.23
ケルゲル-N(%)	3.74	94.54
COD ₀ (%)	69.7	332.6
強熱減量(%)	8.3	50.7
酸可溶性炭(%)	51.19	26.34
酸可溶性アゲン(%)	1.62	0.55

表-5-13 鴨川水系における採水地点とその概況

St.	地名	概 況
1	山中北石橋	全く人家もなく 村堅固
2	八瀬面高橋	京都市市街部への流入期
3	馬 橋	京都市市街部への流入後
4	荒 神 橋	高野川、田代川合流後
5	五条大橋	京都市市街部 中心部
6	島羽大橋	京都市市街部 末端部
7	羽東師橋	鴨川、桂川 合流後
8	宮前橋	桂川、宇治川、木津川合流期
9	椿 葉	桂川、宇治川、木津川合流後 (試験Ⅰでは左岸、試験Ⅱでは右岸)

表-5-16 琵琶湖湖水の分析結果

測定項目	測定値
pH	7.2
Na	4.5
K	1
Ca	9.0
7H ₂ S-16-N	0.26
NH ₃ -N	ND
NO ₃ -N	0.25
PO ₄ -P	ND
T-P	ND
Fe	0.02
Mn	ND

(1/2)

表-5-17 単位有機物量に換算したN,P含有量

	底質	消化汚泥
ケルター R-N	45.06	196.4
CO D _{cr}	339.3	636.1
酸可溶性 N	16.02	37.90

(-49)

表-5-18 鴨川水系 I における水質および葉状体増殖数

St.	水温(℃)	pH		NH ₄ -N		NO ₃ -N		PO ₄		TC	F
autoclave		前	後	前	後	前	後	前	後	後	
1	3.0	6.8	6.8	0.06	0.10	0.12	0.01	0.03	0.03	7.8	15
2	3.1	7.2	7.3	0.08	0.60	0.51	0.07	0.04	0.04	5.4	25
3	5.4	7.1	7.4	0.12	0.66	0.58	0.24	0.30	0.30	8.0	21
4	5.8	7.4	7.3	0.56	0.85	0.79	0.43	0.37	0.37	11.8	46
5	4.4	7.4	7.4	0.53	0.77	0.83	0.23	0.30	0.30	10.0	11
6	3.6	7.0	7.5	0.17	0.26	0.26	0.04	0.04	0.04	9.2	18
7	4.5	7.2	7.5	2.32	0.57	0.60	0.50	0.56	0.56	14.0	19
8	4.0	7.5	7.5	2.16	0.54	0.66	0.49	0.58	0.58	16.8	18
9	2.2	7.2	7.4	0.39	0.88	0.91	0.12	0.18	0.18	7.8	11

F: 葉状体増殖数

(ppm)

表-5-19 鴨川水系 II における水質

St.	水温(℃)	NH ₄ -N		NO ₃ -N		PO ₄		TOC
autoclave		前	後	前	後	前	後	
1	22.1	0.24	0.15	0.34	0.37	0.00	0.03	0
2	25.9	0.77	0.72	0.88	0.83	0.21	0.25	3
3	30.3	0.08	0.12	0.87	0.78	0.30	0.37	4
4	31.2	0.21	0.20	0.75	0.81	0.66	0.79	8
5	32.9	0.11	0.22	0.54	0.57	0.41	0.38	6
6	33.1	1.43	1.87	0.38	0.41	0.32	0.41	19
7	29.5	3.58	3.44	1.99	2.22	0.42	0.41	12
8	29.5	2.70	2.11	1.53	2.14	0.80	0.64	8
9	29.2	1.80	1.58	1.00	1.10	0.94	1.60	5

(ppm)

表-5-20 鴨川水系 II, III における
ウキワ増殖数および
葉類増殖量

試験 II		試験 III	
St.	X (×10 ³)	F	F
1	20	35	60
2	103	14	36
3	90	90	104
4	191	79	112
5	55	85	114
6	232	92	182
7	231	67	64
8	682	176	70
9	214	149	167

F: 葉状体増殖数

X: 葉類増殖量 (g/100g)

表-5-21 琵琶湖 I における水質, ウキワ増殖数 F,
葉類増殖量 X

St.	水温(℃)	pH	NH ₄ -N	PO ₄	TC	F	X
autoclave		後	後	後	後		
1	8.9	7.1	0.25	0.01	13.5	22	0.114
2	8.5	7.2	0.22	0.14	10.5	37	0.091
3	8.5	7.3	0.22	0.03	9.0	29	0.068
4	8.6	7.3	0.25	0.02	9.5	31	0.072
5	8.6	7.4	0.16	0.03	9.0	28	0.058
6	8.5	7.4	0.21	0.17	9.5	32	0.107
7	8.3	7.3	0.19	0.03	8.5	39	0.126
8	-	7.3	0.40	0.06	4.0	44	0.133
9	-	7.3	0.25	0.07	8.0	47	0.104
10	-	7.2	0.35	tr.	6.5	43	0.139
11	-	7.3	0.30	0.18	8.0	33	0.088
12	-	7.3	0.17	0.17	11.0	50	0.090

autoclave 後 NH₄-N は 2 倍に増殖量 X
NO₃-N, PO₄, TC は ppm

表-5-22 琵琶湖Ⅱにおける水質、ウキウ増殖数、藻類増殖量

試料番号	水温(°C)	NH ₄ -N		NO ₃ -N		PO ₄		TC		F	X
autoclave		前	後	後	前	後	前	後			
1	18.0	0.02	0.00	0.20	0.03	0.05	4.7	6.4	31	0.057	
2-1	19.0	0.02	0.02	0.19	0.04	0.05	5.0	7.2	36	0.097	
2-2	9.4	0.02	0.01	0.26	0.03	0.07	3.8	6.4	24	0.057	
3-1	17.8	0.03	0.02	0.17	0.02	0.02	4.7	5.8	29	0.052	
3-2	8.5	0.02	0.00	0.23	0.02	0.03	4.0	5.9	28	0.075	
4-1	19.2	0.02	0.00	0.20	0.02	0.04	4.2	6.4	34	0.102	
4-2	8.3	0.01	0.00	0.12	0.01	0.02	4.6	6.2	29	0.035	
4-3	9.7	0.01	0.00	0.18	0.02	0.02	4.2	4.9	30	0.088	
5-1	15.7	0.01	0.00	0.16	0.00	0.01	4.2	5.8	31	0.059	
5-2	7.8	0.00	0.00	0.28	0.04	0.04	3.8	5.6	32	0.026	
6-1	17.2	0.00	0.00	0.20	0.01	0.05	5.2	5.5	28	0.026	
6-2	8.3	0.00	0.00	0.24	0.02	0.05	5.0	5.6	24	0.024	
7	18.3	0.29	0.06	0.57	0.09	0.12	5.3	5.6	32	0.155	
8	20.3	0.02	0.03	0.10	0.04	0.05	4.4	7.1	39	0.127	
9	20.2	0.12	0.04	0.12	0.03	0.06	4.0	7.3	38	0.087	

F: 藻状体増殖数 NH₄-N, NO₃-N, PO₄ は ppm
X: 藻類増殖量 (個/水)

表-5-23 底泥ろ出水の水質

	測定項目	好気状態		嫌気状態	
		(x10)		(x10)	
		濾過ろ出水	濾過ろ出水	濾過ろ出水	濾過ろ出水
PO ₄	前	0.14	15.8	3.4	56
	後	0.03	15.8	3.8	59
NH ₄ -N	前	0.10	15.5	6.2	104
	後	0.15	10.9	6.4	90
NO ₃ -N	前	1.3	435	0.27	0.14
	後	1.2	380	0.23	0.26
pH	前	7.0	4.4 [*]	7.2	7.8
	後	7.2	4.5 [*]	7.7	7.7

単位: mg/l
*: 標準ろ出水の値

表-5-24 水質と生物指標との相関係数

	琵琶湖Ⅰ			琵琶湖Ⅱ			琵琶湖Ⅲ	
	F	F	X	F	F	X	F	X
PO ₄	0.20	0.67	0.30	0.59	0.07	-0.14	0.08	0.55
NH ₄ -N	0.02 [*]	0.35	0.57	0.04	-	-	-0.75	0.55
NO ₃ -N	0.15	0.45	0.72	0.33	0.17	0.59	-0.19	0.38
NH ₄ -N+NO ₃ -N	0.06	0.41	0.66	-0.10	-	-	-0.11	0.46
PO ₄ +NO ₃ -N	0.20	0.68	0.70	0.04	-0.75	0.37	-0.15	0.43

z: autoclave 前
F: Lomna (藻状体増殖数)
X: 藻類増殖量 (個/水)

表-5-25 ウキワサ増殖数Fと、
藻類増殖量Xとの
相関係数

【I】鴨川水系	
	r
鴨川水系Ⅱ ウキワサF - 藻類X	0.75
鴨川水系Ⅰ 鴨川水系Ⅱ ウキワサF - ウキワサF	0.49
鴨川水系Ⅱ 鴨川水系Ⅲ 藻類X - ウキワサF	0.00
【II】琵琶湖	
	r
琵琶湖Ⅰ ウキワサF - 藻類X	0.34
琵琶湖Ⅱ ウキワサF - 藻類X	0.60

表-5-26 鴨川水系Ⅱにおけるウキワサ増殖数の
t-検定結果

St.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	C
1		V	V	V	V	V	X	I*	V	V
2			V	V	V	V	I*	I*	V	V
3								I*	V	V
4						X		I*	V	V
5								I*	V	V
6							XX	I*	V	V
7								V	V	V
8									XX	I*
9										V
C										

I: 1% 有意水準
V: 5% 有意水準
X: 10% 有意水準
XX: 20% 有意水準
*: 無作為化検定法

表-5-28 琵琶湖Ⅱにおけるウキワサ増殖数の
t-検定結果

St.	1	21	22	31	32	41	42	43	51	52	61	62	7	8	9	C
1		X										X				I
21			I	V	V		V	XX	XX	XX	XX	I				I*
22					X	XX	V	X	V	V	X	X	V	I	I	I*
31												X	V	V		I
32												X	V	V		I
41								XX				V				I
42												V	V	V		I*
43												V	XX	V		I
51												V	XX	XX		I*
52												V	XX	XX		I
61												X	X	XX		I
62													V	I	I	I*
7																I
8																I
9																I
C																

I: 1% 有意水準
V: 5% 有意水準
X: 10% 有意水準
XX: 20% 有意水準
*: 無作為化検定法